



## Primer Curso a Distancia en Infectología Crítica

*Tercera Cohorte-2007*

### **Estrategias para el Diagnóstico y Tratamiento de las Infecciones En el Paciente Crítico**

*Toma de Muestra microbiológica: Cuales y cuando?  
en UTI*

*Autor: Dra Miriam blanco*

---

**Directores**

**Dra. Mariela Paz**  
*Miembro del CIC. Médica especialista en Terapia Intensiva y Medicina Crítica. Médica Asociada de Terapia Intensiva del HIBA*

**Dra. Monserrat Lloria**  
*Miembro del CIC. Médica de planta de la Unidad de Terapia Intensiva de adultos. Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas*

**Coordinación general**

**Dra. Rosa Reina**  
*Secretaria CIC. Jefa de Sala de UTI Hospital San Martín, La Plata*

**Tutores**

**Miriam Blanco**  
*Miembro del CIC. Bioquímica integrante del Área Microbiología del LACYM del Htal Italiano de La Plata*

**Dr. Alberto Cremona**  
*Miembro del CIC. Médico de Staff de Servicio de Terapia del Hospital Italiano de La Plata. Médico Jefe de Servicio de Infectología del Hospital Italiano de La Plata Miembro del CIC*

**Dra. Mercedes Esteban**  
*Miembro del CIC. Médica de planta de la Unidad de Terapia Intensiva de adultos Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. Miembro del CIC*

**Dra. Candela Llerena**  
*Miembro del CIC. Médica especialista en Terapia Intensiva y Medicina Crítica Htal Central de San Isidro, Servicio de Terapia Intensiva/ Clínica del Parque*

**Dr. Leonardo Lourtau:**  
*Miembro del CIC. Médico Infectólogo*

**Dr. Juan J. Videla**  
*Presidente CIC. Médico de Planta División Terapia Intensiva Hospital F. J. Muñiz. Secretario Comité de Control de Infecciones Hospital F. J. Muñiz*

**Asesoramiento pedagógico**

**Lic. Lia Susana Telechea**  
*Diplomatura en Diseño y Gestión en Educación a Distancia (U N S A M). Experta en EaD*

**Diseño y Gestión**

**Dr. Javier Desse**  
*Médico Especialista en Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas. Diplomatura en Diseño y Gestión en Educación a Distancia (U N S A M)*

**Comité de informática**

**Dr. SergioGiannasi**  
*Comité de Informática de SATI*

**Dr. Néstor Raimondi**  
*Comité de Informática de SATI*

*“El aprendizaje se presenta como un camino constante hacia la promoción humana en todos sus ámbitos y cuando aparece la demanda de capacitación permanente, la actualización de saberes y prácticas profesionales reconocemos una limitación fuertemente marcada por tiempos y distancias, para acercarse a centros especializados que brinden ofertas de actualización permanente, especializadas y de calidad”. Este es uno de los motivos más fuertes para iniciar este proceso*

# **A**proximación a la toma de muestras microbiológicas en la unidad de cuidados críticos

## Objetivos

- Reconocer los diferentes tipos de materiales útiles para el procesamiento microbiológico de los internados en UCI
- Conocer la/s metodología/s para la toma de muestra/s microbiológica/s de diferentes sitios blanco.
- Interpretar los resultados emitidos por el Laboratorio de Microbiología en el contexto clínico del paciente internado en UT

## Introducción

La Microbiología es la ciencia que trata de los seres vivos cuyo tamaño se encuentra por debajo del poder resolutivo del ojo humano. El objeto de la misma está determinado por la metodología apropiada para poner en evidencia, y poder estudiar, a los microorganismos.

El laboratorio de Microbiología nos va a ser útil en:

- DETERMINAR LA ETIOLOGIA DE LA INFECCION
- AYUDAR EN LA ELECCION CORRECTA DEL TRATAMIENTO
- DETERMINAR LOS PERFILES DE SENSIBILIDAD
- AYUDAR EN EL CONTROL DE INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS
- REALIZACIÓN DE ESTUDIOS EPIDEMIOLOGICOS (VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA)
- COMPROBAR EL USO EFECTIVO DE LA TERAPIA ANTIMICROBIANA

Uno de los aspectos más importantes en los análisis microbiológicos es la correcta selección, recolección, transporte y conservación de las muestras, pues permite asegurar la reproducibilidad de los diferentes métodos diagnósticos (Ej: microscopía, cultivos y/o test de Ag/ Ac). Son necesarios una serie de datos, tanto del paciente como de la muestra, para no omitir ó retardar análisis adecuados que permitan saber (en el menor tiempo posible) la tipificación de un germen y su antibiograma para arribar a un tratamiento adecuado.

Hay que fomentar un diálogo en el cual se puedan ver entre las 2 partes que es mejor para el paciente. No sólo cuál es la mejor muestra sino también, en que momento tomarla (antes del ATB o en caso que ya lo esté tomando en el valle). Es importante tener en cuenta que para situaciones y test diagnósticos especiales se requiere, más que nunca, la comunicación entre microbiólogos y médicos; saber que medios se precisan para transportar o conservar las muestras, si se realizan en el centro en el que están trabajando o se envían fuera.

Es necesaria la preparación continuada del personal que realiza las tomas de muestras, al que hay que concientizar del gasto inútil y la falsedad de los datos obtenidos a partir de una muestra inadecuada.

### ***La selección de la muestra ADECUADA se hace considerando el rendimiento relativo de las posibles muestras para diferentes microorganismos esperados y distintas pruebas a realizar***

Cuando la viabilidad de las bacterias es escasa o la posibilidad de desecación de la muestra es grande (favoreciéndose la destrucción bacteriana) y la toma no puede realizarse en el mismo laboratorio, se usarán medios de transporte (Stuart o Amies que preservan las bacterias

La siguiente guía tratará de ser útil para el aislamiento de la mayoría de los microorganismos médicamente importantes, en las muestras que con más frecuencia se remiten. Adjuntamos también una tabla en la cual, según los horarios en que funcione microbiología, puede verse cómo tomar la muestra, en que envase es apropiado mandarlo y cómo conservarla.

#### Generalidades:

- Deben usarse medidas de seguridad apropiadas para la recolección, transporte y procesamiento inicial de todas las muestras.
- Como algunas infecciones son causadas por la flora colonizante de los pacientes, es importante evitar la contaminación de las muestras con dicha flora.
- Las muestras deben tomarse de áreas donde existe replicación activa de los microorganismos: la muestra apropiada sería una que represente el foco activo de la lesión.
- La cantidad de muestra debe ser tal que permita la realización de los test requeridos. Si sólo una pequeña cantidad es obtenida, debe indicarse a que debe darle una prioridad en el momento del procesamiento.

- Como regla general, las muestras obtenidas por hisopado no poseen el tamaño apropiado, son fácilmente contaminadas y están sujetas a la desecación, con la subsecuente pérdida de la mayoría de los microorganismos.
- El transporte de las muestras debe procurar mantener la viabilidad del agente etiológico (si va a realizarse un cultivo) y prevenir el sobrecrecimiento de organismos contaminantes.

Cada muestra debe remitirse al laboratorio con una mínima información acerca del paciente y la muestra para poder realizar luego una correcta interpretación de los resultados obtenidos.

Todas las muestras deberían llegar al laboratorio con los siguientes datos:

- 1- Nombre del paciente, edad, sexo y habitación en que se encuentra.
- 2- Nombre del médico que solicita el estudio.
- 3- Sitio anatómico específico de cultivo.
- 4- Diagnóstico definitivo o probable, requerimientos especiales de cultivo, datos clínicos relevantes del paciente.
- 5- Indicar si se realizaron procedimientos especiales para obtener la muestra.
- 6- Terapia antibiótica y otros tratamientos que está recibiendo el paciente o haya recibido en las últimas horas.
- 7- Datos importantes que aporten una mayor claridad a la interpretación de resultados (internaciones y/o cultivos previos, procedencia de otras unidades hospitalarias).

Así mismo, cada muestra debe venir correctamente rotulada con los siguientes datos:

- 1- Nombre del paciente
- 2- Habitación
- 3- Sitio de cultivo
- 4- Hora y día de recolección

**RECORDAR:** Si la muestra seleccionada no es la apropiada (por ejemplo: hisopados de heridas y no punción aspiración por piel sana), los resultados pueden ser engañosos y conducir a una terapia inapropiada.

**Tipos de envases adecuados: Diapositiva Uno**

El personal encargado del muestreo debe tener siempre presente que la rapidez y eficiencia con que se logre obtener información de utilidad clínica de las muestras tiene directa repercusión en la salud del paciente, el manejo racional y adecuado de los recursos del laboratorio, la seguridad del resto de los pacientes y el personal que allí labora, el control de los antibióticos, el tiempo de hospitalización, disminución de costos de operaciones y en general la credibilidad del laboratorio y el hospital en general.

Las muestras deben representar la probable infección, de lo contrario el procesamiento y reporte de muestras no adecuadas puede proveer información equivocada, lo cual puede llevar a un mal diagnóstico y fallas en el tratamiento.

*El laboratorio debe tener una política estricta de aceptabilidad y rechazo de muestras clínicas.*

#### **Causas de rechazo de muestras.**

1. Muestras no rotuladas con los datos del paciente
2. Discrepancia en la identificación del paciente y la muestra
3. Envase y/o medios de transporte inadecuados
4. Demora prolongada en el envío de la muestra al laboratorio
5. Duplicación de muestra del paciente (dentro de 24h), excepto hemocultivos justificados
6. Muestra en la cual no se indicó tipo de la misma ni procedencia
7. Muestra con agregado de conservantes cuya procedencia es dudosa
8. Muestra derramada o envase mal cerrado
9. Hisopos secos cuando se requiere un medio de transporte
10. Un sólo hisopo o muestra con múltiples análisis
11. Muestra para anaerobios en envase inapropiado o cultivo para anaerobios de muestras con flora anaeróbica normal
12. Orina tomada directamente de la bolsa
13. En las muestras líquidas, volumen inadecuado
14. Contaminación obvia de la muestra

#### **Muestras rechazadas por la cuestionable información aportada.**

1. Hisopados de superficie oral (excepto búsqueda de levaduras). úlceras de decúbito, úlceras varicosas, lesión superficial gangrenosa, heridas abiertas, etc
2. Punta de catéter Foley
3. Descarga de colostomía
4. Espujo salivoso
5. Heces formes para detección de toxina de *Clostridium difficile*

#### **HEMOCULTIVOS.**

Es importante tener en cuenta algunas definiciones, antes de proceder a explicar cómo y cuando debemos tomar un hemocultivo. Cada muestra (set) constituye un hemocultivo, independientemente de los recipientes llenados con ésta. Un conjunto de muestras o sets constituyen una serie. Para saber correctamente que botellas cargar y con que intervalos deben tomarse las muestras, hay que saber que tipos de bacteremias podemos tener:

**-Transitoria:** puede aparecer cuando existe manipulación de tejidos infectados y odontológicos, instrumentación de superficies mucosas contaminadas, cirugía en áreas contaminadas, en algunas meningitis, osteomielitis, neumonía, pielonefritis. Etc.

**-Intermitente :** en pacientes con Fiebre de Origen Desconocido asociado a la presencia de abscesos intraabdominales, pélvicos, hepáticos, no drenados, prostáticos, Fiebre Tifoidea, Brucelosis.

- **Continua:** asociada a focos endovasculares, característica de endocarditis bacteriana, flebitis supurada, infección relacionada a catéteres y primeras semanas de Fiebre tifoidea y Brucelosis.

### Generalidades.

- 1- Nunca una sola muestra sirve para descartar bacteriemia. Un resultado positivo aislado carece de significado clínico.
- 2- Se considera que dos (2) ó tres (3) muestras son suficientes para aislar al agente infeccioso.
- 3- Las muestras sucesivas deben obtenerse, para descartar contaminación, de diferentes sitios de punción y a diferentes tiempos.
- 4- No existen diferencias en cuanto al rendimiento cultivando sangre arterial y/o venosa.
- 5- Se recomienda no obtener sangre a través del catéter para disminuir el riesgo de contaminación (falsos positivos), a excepción de los neonatos del catéter umbilical por presentar menor colonización que la piel.
- 6- Se aconseja efectuar las tomas 30 minutos a 1 hora antes del pico febril (cuando éste puede ser detectado), en caso de Síndrome febril prolongado se deben obtener tres (3) intervalos de 15 a 20 minutos cada una (bacteriemias transitorias o intermitentes).
- 7- Hemocultivos separados. De resultar negativos 24 a 36 horas más tarde se aconseja obtener otras dos o tres muestras de sangre 60 a 30 minutos antes del pico febril.
- 8- En pacientes con sospecha de Endocarditis se recomienda:
  - Aguda:** tres (3) muestras de sangre para cultivo dentro de la 1ª ó 2ª hora de evaluación y luego comenzar la terapia antibiótica
  - Subaguda:** tres (3) muestras de sangre con intervalos de 15 minutos el 1º día. De ser negativos más tarde deben obtenerse 3(tres) nuevas muestras de sangre.
  - Paciente con Terapia Antimicrobiana:** 2(dos) o 3 (tres) muestras de sangre por día durante tres días sucesivos.
- 9- Si el Paciente está recibiendo Antibioticoterapia las extracciones se realizarán cuando el/los antibióticos se encuentren en su mínima concentración sérica (valle) 45 minutos antes de la siguiente dosis, a intervalos de 15 minutos cada una. .
- 10- Si el Paciente ha recibido antibioticoterapia previa se recomienda realizar la 1º extracción (sin antibiótico), luego de transcurridas 4 (cuatro) veces la vida media del antibiótico suministrado
- 11- Para neonatos se aconseja realizar una serie de 2 (dos) hemocultivos como mínimo extraídos a distintos tiempos.
- 12- Para la búsqueda de microorganismos nutricionalmente exigentes se aconseja solicitar el uso de frascos Hemo 100 multipropósito (si se usan métodos manuales) o los frascos PLUS (métodos automatizados). Los mismos se hallan suplementados con cofactores, vitaminas y sales minerales, tienen resinas que permiten reducir la interferencia de los ATB que pueda tener el paciente. Se recomienda para la búsqueda de *Brucella* spp., *Streptococcus* spp., Bacterias fastidiosas (grupo HACEK), Pacientes inmunocomprometidos

**NO OLVIDES CONSULTAR LA TABLA ADJUNTA DE TOMA DE MUESTRA**

### **Técnica para la toma del hemocultivo.**

1) Preparación de la piel: Luego de colocar el lazo y palpar la vena se procede a la asepsia de la piel con Iodo al 2% ó Iodo- povidona al 10 % ó alcohol al 70 %.

\*Dejar actuar un minuto.

\*Extraer la sangre sin volver a palpar la zona ya preparada, de ser necesario hacer esto proceder con los guantes igual que con la piel del paciente.

Volumen de sangre: \* Adultos: 8 a 10 ml.

\* Niños: 1 a 3 ml.

No existe diferencia entre sangre venosa y arterial en cuanto a la recuperación de gérmenes.

2) Desinfectar con alcohol al 70 % la tapa del frasco de hemocultivo.

3) Transferir la sangre al frasco de hemocultivo tratando de que no entre aire (asegurarse esto dejando un volumen de sangre dentro de la jeringa) y mezclar por inversión para que la sangre entre en contacto con el anticoagulante. Si se busca aislar *Pseudomonas* y/o levaduras, las muestras si deben airearse.

### **Extracción de hemocultivos: Diapositiva Dos**

Los frascos que vamos a utilizar, además de considerar que disponibilidad contamos en cada lugar de trabajo, depende también del tipo de germen sospechado (aerobio ó anaerobio), del tipo de paciente (adulto ó pediátrico) y de si el paciente está recibiendo ó no terapia antibiótica.

Existen 2 métodos principales de hemocultivos: automatizados, manuales (dentro de éste la lisis centrifugación).

#### **Método manual:**

- Botellas para hemocultivos convencionales: se presentan con atmósfera aeróbica, anaeróbica y microaerófila. La elección entre ellas depende de él o los microorganismos sospechados.
- - Botellas para Hemocultivos bifásicos. Estas permiten el subcultivo en la misma botella ej: Septicheck, Biomerieux.
- 

**Método de Lisis** - Centrifugación ej: Isolator que permite una cuantificación de colonias y mejor recuperación de *Mycobacterias* spp., *Brucella* spp., *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*.

### **Tipos de envases adecuados: Diapositiva Tres**

#### **Método automatizado**

- *Bactec- Bact.Alert* : presentan ventajas al operador por ser más seguros (disminuyen las invasiones que se le hacen a las botellas) y existir así menor porcentaje de contaminación. Permite detectar más tempranamente crecimiento microbiano. Existen botellas de diferente constitución química según el microorganismo sospechado, ej: botellas aeróbicas, anaeróbicas, para gérmenes fastidiosos, Hongos, *Mycobacterias* y tanto para uso pediátrico como para adulto.

**Conclusiones importantes.**

- **Las muestras deben extraerse antes del tratamiento ATB ( de no ser posible, sacar las muestras antes de la próxima dosis ) y si hay fiebre, en los picos.**
- **El intervalo entre muestras lo establece el médico y depende de la patología de base que se sospecha.**
- **Para descartar contaminación las distintas muestras deben obtenerse de diferentes sitios de punción.**
- **Se recomienda no extraer sangre a través de los catéteres, salvo que se esté realizando un retrocultivo ó en neonatos en el catéter umbilical.**
- **Cuando se hacen retrocultivos se necesitan dos muestras(mínimo, dependerá de las luces del catéter): una a través del catéter y otra de vena periférica (esta obtenida siempre primero).**
- **\*Una vez extraído el set de hemocultivos debe remitirse inmediatamente al laboratorio y colocarlo a 37°C (estufa convencional o equipo automatizado).**

***Método de Lisis centrifugación***

Es muy útil en la recuperación de gérmenes intracelulares, principalmente hongos. El procesamiento de los tubos de lisis-centrifugación es más complejo y no está exento de contaminaciones externas, por lo que deben extremarse al máximo todas las medidas indicadas por el fabricante. Si durante la incubación se observa crecimiento temprano de algún microorganismo, las placas deben reincubarse para comprobar el posible crecimiento de un segundo germen.

**Tipos de envases adecuados: Diapositiva Cuatro****CATÉTERES**

El diagnóstico de certeza de infección asociada a catéter (IAC) necesita métodos que demuestren que los MO aislados (en el hemocultivo y en el catéter) son genéticamente idénticos ya que no basta guiarse sólo por el antibiograma. Esto es importante cuando los MO involucrados forman parte de la flora habitual.

Una serie de estudios han demostrado que más del 70% de los catéteres retirados por sospecha de infección tuvieron cultivo negativo, evidenciando así que la retirada era innecesaria.

**1) Métodos con remoción:**

- a) **Cultivo semicuantitativo de la punta del catéter** (Maki y cols 1977) Se cultiva la superficie externa de la punta del catéter (entre 3 y 5 cm). Si crecen >15 ufc/placa, se considera que el catéter está colonizado. Diversos estudios con CVC han demostrado la existencia de casos de infección asociados a recuentos inferiores a 15 ufc o incluso negativos, particularmente si el origen era endoluminal.
- b) **Cultivos cuantitativos de la punta del catéter**
  - i) Cleri y cols (1980) detectan MO de las superficies externa e interna del catéter y comparan los recuentos de dos segmentos del catéter, la punta y el segmento intradérmico o subcutáneo. El punto de corte a partir del cual un catéter se considera colonizado es  $>10^3$  ufc/ml.
  - ii) Sherertz y cols (1990) sonicar la punta de catéter y consideran como punto de corte 100 ufc/ml. Brun-Buisson y cols (1990) agitan (vortex) un segmento del catéter en 1 ml de solución fisiológica estéril y utilizan el mismo punto de corte de Cleri. La sonicación detectó el 80% de la colonización intraluminal, mientras que el método semicuantitativo sólo lo hizo en el 57%. Por el contrario, el último método fue más sensible que los otros para detectar la colonización extraluminal.
  - iii) Liñares y cols (1985), hicieron una modificación del método de Cleri para conocer la colonización de la luz del catéter y, luego, siembran por la técnica de Maki, para conocer la colonización de la superficie externa del mismo.

Diferentes estudios prospectivos encontraron que tanto el método de Maki como el de Brun-Buisson tienen similar sensibilidad y especificidad, y aplicados en conjunto permiten diagnosticar IAC y BRC (sensibilidad del 100%, con un valor predictivo positivo (VPP) 50% y valor predictivo negativo (VPN) 97-99%).

- c) Tinción de la punta del catéter: Se usan las coloraciones de Gram (Cooper y col) y la de naranja de acridina (Zufferey y col). Los catéteres, tras ser teñidos, se observan directamente al microscopio y se considera positiva la presencia de al menos un microorganismo/20 campos observados en inmersión.
- 2) **Métodos sin remoción:** Se han usado para el diagnóstico: cultivos semicuantitativos del sitio de inserción y el hub (conexión), hemocultivos cuantitativos, citocentrifugación con tinción de naranja de acridina, cepillado intraluminal y tiempo diferencial de crecimiento entre hemocultivo periférico y central.
- a) Cultivos semicuantitativos del sitio de inserción y hub. Se tienen en cuenta las dos vías principales de acceso de los MO. Fue inicialmente propuesto por Bjornson y cols para la piel (hisopando 10 cm<sup>2</sup> alrededor del sitio de inserción) y por Cercenado y cols para el hub. Snyderman y cols (1982) además, realizaron cultivos de la piel pericatóter. Se considera que piel o conexión son positivas cuando el recuento es >15 ufc.
- b) Hemocultivos cuantitativos: Wing y cols (1979) cultivaron sangre tomada a través de un catéter "infectado" y la compararon con cultivos de sangre periférica. El número de ufc/ml de bacterias, obtenidas de la sangre a través de un catéter infectado es mayor que el de la sangre extraída de una vena periférica. Una relación superior a 5-10, entre los recuentos de ambos hemocultivos es indicativo de BRC. La mayor ventaja de la técnica cuantitativa, realizada mediante el procedimiento de lisis-centrifugación, es que permite el diagnóstico de certeza de la IAC, en el caso de hemocultivos positivos, y evita la retirada innecesaria del catéter. En aquellos casos con hemocultivos negativos, la principal desventaja es el costo, lo laborioso de la técnica y la necesidad del procesamiento inmediato de la muestra.
- c) Velocidad diferencial de positividad de hemocultivos cualitativos: Se aprovecha la capacidad de los métodos automatizados de registrar el tiempo exacto en que se positiviza un hemocultivo. Los hemocultivos con mayor inóculo bacteriano deben tener tiempos de crecimiento más rápido que los inoculados con menor cantidad de bacterias. Las diferencias en tiempo de crecimiento entre hemocultivos procesados simultáneamente del catéter o de una vía periférica, pueden orientar sobre un origen de la bacteriemia en la punta del catéter. Blot y cols establecen un tiempo diferencial de 120 minutos.

Previo a la extracción del catéter deben enviarse uno ó dos hemocultivos de sangre periférica y de venas distintas a las que está colocado el catéter. **Nunca** hacerlo después pues al remover el catéter puede existir desplazamiento de bacterias que estaban colonizando hacia el torrente sanguíneo. Sirven los hemocultivos tomados hasta 48 horas previas.

#### Técnica de extracción de la punta de catéter.

El catéter debe extraerse desinfectando previamente la zona que lo rodea y, en condiciones de asepsia también, cortarse y enviarse solamente los 4 ó 5 cm de la punta en frasco seco estéril.

Los fines de semana (Sábados después de las 14 hs y Domingos) o cuando no hay personal en Bacteriología puede enviarse la punta del catéter en **1ml** de solución fisiológica en frasco estéril y guardarse en heladera. En este caso la muestra será procesada solamente por el método cuantitativo de Brun-Buisson, imposibilitándose la realización del método semicuantitativo de Maki.

**Si al sacar el catéter se observa pus ó exudado, éste debe ser cultivado por recolección con aguja y jeringa estéril. Se envía en la misma jeringa ó se transfiere a un tubo estéril seco y se conserva a temperatura ambiente.**



## **NO OLVIDES CONSULTAR LA TABLA ADJUNTA DE TOMA DE MUESTRA**

### **UROCULTIVO.**

La orina es un fluido estéril del cuerpo, pero en su recorrido hacia el exterior pasa por zonas con flora colonizante por lo tanto, para su estudio, es necesario extremar las medidas de higiene en su recolección.

Cualquiera sea el método de recolección, la orina debe enviarse inmediatamente al laboratorio para ser conservada en heladera a 4-8°C hasta su procesamiento.

- -NO enviar orina para cultivo de la bolsa colectora.
- -NO enviar punta de sonda vesical para cultivo.
- -Si se sospecha infección por micobacterias, remitir al laboratorio 3 muestras de orina de días sucesivos. Se debe recolectar toda la 1º orina de la mañana en frascos estériles independientes cada día y realizando la higiene previa.

Se aconseja recolectar la 1º orina de la mañana o con un mínimo de 3 hs de retención. De no ser posible, aclarar el tiempo ya que esto es importante al momento de valorar el recuento de bacterias obtenidas.

- Higiene

1) Pacientes sin sonda vesical con micción espontánea.

A- Pacientes que controlan los esfínteres.

#### **Mujer:**

- Colocar un tampón vaginal ó torunda de algodón envuelta en gasa.
- Lavar por arrastre los genitales externos con agua y jabón nuevo, de adelante hacia atrás. Enjuagar con agua corriente y luego con solución fisiológica o agua previamente hervida con sal.
- No secar la zona higienizada. No retirar el tampón hasta finalizar la recolección.

#### **Hombre:**

- Retraer el prepucio y lavar el glande con agua y jabón nuevo, enjuagar con agua corriente y luego con solución fisiológica o agua previamente hervida con sal.
- No secar la zona higienizada. Mantener el prepucio retraído, de lo contrario se deberá repetir la higiene.

#### ➤ Muestra

- Comenzar a orinar despreciando el 1º chorro (10 ml).
- Recolectar el chorro medio en el frasco estéril. Desechar la última porción de orina.
- Remitir la muestra al laboratorio. De lo contrario conservar en heladera a 4-8°C hasta su transporte al laboratorio.

B -Pacientes que no controlan los esfínteres.

#### **Lactantes:**

Nunca usar bolsas colectoras. Realizar la recolección con el mayor tiempo de retención posible. Se aconseja suministrar líquidos 30 minutos antes de la misma.

- Higiene en la niña: Se separan los labios mayores y se lava de adelante hacia atrás la zona uretrovulvar con agua y jabón nuevo. Enjuagar con agua corriente y luego con solución fisiológica o agua previamente hervida con sal. NO secar. Mantener las piernas separadas y obtener la orina al acecho en un recipiente estéril. Si pasados 45-60 minutos no se pudo recolectar, repetir la higiene.

➤ Higiene en el niño: Se retrae el prepucio y se lava con agua y jabón nuevo, enjuagar con agua corriente y luego con solución fisiológica o agua previamente hervida con sal. NO secar. Mantener el prepucio retraído y obtener la orina al acecho en un recipiente estéril. Si pasados 45-60 minutos no se pudo recolectar, repetir la higiene.

2) Pacientes con sonda vesical.

e obtiene por punción de la sonda, previo clampeo de la misma durante 15 minutos, a 10 cm de su inserción en el meato urinario. La sonda se desinfecta con yodo ó iodopovidona. La muestra se obtiene con jeringa y aguja estériles. La orina puede enviarse en la misma jeringa cerrada ó bien se debe colocar en un tubo o frasco estéril. Se remite inmediatamente al laboratorio para ser conservada a 4-8°C hasta su procesamiento.

### **Técnica Urocultivo: Diapositiva Cinco**

3) Punción Suprapúbica (PSP)

Indicaciones:

- -Neonatos.
- -Lactante grave internado reiteradamente.
- -Investigación de: Mycoplasma spp., Ureaplasma spp., anaerobios, Cándida spp..

Opcional

- -Paciente con vejiga neurogénica.
- -Paciente con sonda vesical.
- -Paciente dializado.

La muestra deberá ser obtenida por personal capacitado. Una vez obtenida la muestra se aconseja inocular una parte en un medio de cultivo líquido (ej: frasco de hemocultivo), y el resto remitirla asépticamente en la jeringa tapada al laboratorio.

4) Paciente con Vejiga Neurogénica

Es el único caso en que puede utilizarse sondaje vesical intermitente para la recolección de la muestra (sonda nelaton). La colocación se hace con estrictas normas de asepsia: desinfección del meato urinario, utilización de guantes estériles. Se descarta la porción inicial de orina y se recolecta en frasco estéril la porción media.

#### **Recordar:**

- **Realizar la higiene apropiada**
- **Refrigerar siempre la muestra**
- **Juntar la muestra antes de la toma de ATB**



## LIQUIDOS DE PUNCION

Antes de hacer la punción hay que elegir apropiadamente el sitio a punzar, guiado por ecografía en algunos casos o TAC y hacer limpieza y desinfección. Es recomendable preparar un campo estéril y procurar tener todo el material antes de iniciar la punción. Parece banal, pero tener cerca los frascos donde vá a colocarse el material, evitar el tener las jeringas destapadas esperando que llegue el frasco adecuado y preguntarse si hay que ponerle o no heparina.

- *¿Recuerda el proceso para limpiar y desinfectar?*
- *¿Cuáles son los desinfectantes apropiados?*
- *Repase estos conceptos antes de seguir avanzando con la lectura del texto.*

Los líquidos de punción deben enviarse en frascos estériles que, excepto para el caso de LCR, deben tener anticoagulante. Así mismo, pueden usarse los frascos de hemocultivo y en este caso el volumen y tipo de la muestra y el tratamiento previo del paciente van a definir que frasco es el apropiado.

En algunas la orientación que brinda el exámen directo es muy útil para instaurar un tratamiento rápido.

*Recordar: En la peritonitis, el gran volumen de líquido ascítico presente aumenta la dilución del inóculo microbiano, por lo tanto para aumentar la rentabilidad del cultivo se recomienda colocar 10 ml en un frasco de hemocultivo. En caso de querer recuperar hongos, se recomienda centrifugar 50 ml de líquido, inocular el sedimento en dos frascos de hemocultivo.*

### TOMA DE MUESTRA LCR

1. Realizar la punción en condiciones de máxima asepsia
2. Desinfectar la zona con yodopovidona al 2%
3. Realizar la punción en los espacios intervertebrales L3-L4, L4-L5 ó L5-S1.
4. Al llegar al espacio subaracnoideo, dejar salir libremente el LCR; recogerlo en tres tubos estériles con tapa a rosca
5. Extraer un volumen mínimo de 10 ml (3 ml / tubo), excepto en niños
6. Enviar inmediatamente al laboratorio
7. Extraer sangre para hemocultivo

**IMPORTANTE:** *mantener el diálogo médico-microbiólogo, que frascos son los más apropiados, si hay disponibles métodos automatizados, si se buscan hongos que medio es el más apto, "SU PREGUNTA NO MOLESTA"*

### TOMA DE MUESTRA LÍQUIDOS ESTÉRILES

1. Realizar la punción en condiciones de máxima asepsia
2. Desinfectar la piel con iodopovidona al 2%
3. Obtener la muestra por aspiración con aguja percutánea o por cirugía
4. Extraer un volumen mínimo de 5 ml y colocarlo en un tubo estéril con tapa a rosca (si el volumen es grande, inocular un frasco de hemocultivo)
5. Enviar inmediatamente al laboratorio



**Las muestras en frascos de hemocultivo se colocan a 37° C y los frascos estériles para coloraciones y fresco se conservan a temperatura ambiente.**

## **MUESTRAS RESPIRATORIAS - TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR**

Ya dijo el Dr Bartlett en el año 1974:

***“El cultivo de especímenes del tracto respiratorio inferior, puede resultar en el mayor esfuerzo innecesario que cualquier otro tipo de muestra”***

Y aún hoy sigue siendo real. Las dificultades para obtener muestras representativas del sitio de la infección, los problemas de contaminación de las muestras, la determinación segura del agente infeccioso responsable del proceso, el valor de éstas muestras en el diagnóstico de las enfermedades respiratorias e incluso la selección del ATB apropiado sigue siendo un desafío para el grupo médico - microbiólogo.

La probabilidad de que la muestra resulte contaminada, es un reflejo de la abundante y variada flora normal de la cavidad orofaríngea ( $10^{10}$  a  $10^{12}$  Ufc/ml). Los tratamientos según germen aislado deben estar dirigidos a combatir la infección y no la colonización o la contaminación que puede resultar de la toma de una muestra inadecuada.

La neumonía nosocomial es la segunda causa de las infecciones adquiridas en el hospital, se adquiere a través de tres mecanismos: aspiración, inhalación y/o diseminación hematológica a partir de otro foco de sepsis. La flora orofaríngea normal está formada por cocos grampositivos pero en pacientes hospitalizados aumenta la colonización por bacilos gramnegativos y alcanza el 60-75% en unidades de cuidados críticos.

### **MUESTRAS APROPIADAS**

- Espujo y aspirado traqueal (dentro de las 48 – 72 horas de internados, luego pierde utilidad)
- Muestras no fibrobroncoscópicas: Mini BAL
- Muestras fibrobroncoscópicas: Lavado bronquioloalveolar y Cepillo envainado
- Biopsia bronquial o de pulmón.

### **ASPIRADO TRAQUEAL.**

Se recogen las secreciones en una trampa que se une al equipo de aspiración que se usa habitualmente para aspirar las secreciones de los pacientes traqueostomizados. Estas muestras deben ser tratadas como un espujo y hay que recordar que los pacientes se colonizan con patógenos nosocomiales multirresistentes. Estos microorganismos pueden ser aspirados y causar neumonía. Por lo tanto, tratar de establecer el agente etiológico genera una verdadera confusión a los médicos y microbiólogos.



***Enviar rápidamente al laboratorio  
No refrigerar la muestra***

Es útil la valoración de la muestra que se realiza por las tinciones iniciales, descartando las muestras que resulten inapropiadas. El índice de Bartlett es útil para valorar el espujo y/o secreciones. Debe contarse el número de leucocitos y de células epiteliales escamosas en campo de 100. Se hace luego una puntuación, se suma y todo resultado positivo hace que la muestra sea aceptable.

a) Leucocitos

10 a 25 leucocitos = 1

> 25 leucocitos = 2

b) Células epiteliales escamosas:

10 a 25 células epiteliales = - 1

> 25 células epiteliales = - 2

**CEPILLO ENVAINADO (CE)**

Consiste en un cepillo dentro de una doble cánula con un tapón de carbowax en el extremo distal de la cánula externa para evitar la contaminación con secreciones orofaríngeas, a medida que avanza el dispositivo a través del canal de succión del fibrobroncoscopio; una vez ubicado en el sitio elegido se avanza la cánula interna y por último el cepillo y se muestrea, luego se invierte el proceso.

Se debe evitar la inyección de lidocaína a través del canal de succión, porque tiene efecto antibacteriano y puede producir la expulsión de secreciones acumuladas en el canal de succión, aumentando la contaminación. El anestésico debería aerosolizarse en orofaringe, vías aéreas proximales y evitar la succión de secreciones a medida que avanza el fibrobroncoscopio.

Se toman aproximadamente 0,01 a 0,001 ml de secreciones de los bronquiolos terminales.

Debe enviarse con la cánula externa, previa limpieza por fuera con etanol al 70 % en su envase original dentro de las 2 hs. después que se tomó la muestra (idem para BAL).

Permite el cultivo de anaerobios pero no sirve para hongos o tuberculosis por la escasa muestra ni para coloraciones.

Debe hacerse antes que el B.A.L para disminuir los falsos positivos.

**LAVADO BRONCOALVEOLAR ( BAL )**

Consiste en la instilación y aspiración secuencial de solución fisiológica a través del broncoscopio enclavado en un subsegmento pulmonar.

Se realiza con 100 ml el B.A.L y entre 10-20 ml el mini-B.A.L. El volumen recuperado no debe ser menor a 5 ml. La primer porción que se recupera es la más contaminada y sólo sirve para hongos y tuberculosis. Se muestrean  $10^6$  alvéolos (1% del parénquima pulmonar).

En el recuento diferencial se cuentan 200-300 elementos e/ polimorfonucleares (PMN), macrófagos ( $M\phi$ ), células epiteliales escamosas (C.E.E) y células bronquiales; no se tienen en cuenta los hematíes.

Una buena muestra debe tener:

- \* < 1 % de C.E.E (una proporción mayor indica contaminación orofaríngea).
- \* Entre 2 y 25 % de  $M\phi$  con bacterias intracelulares (altamente predictoras de neumonía).
- \* PMN para asegurarse que se muestreó un área inflamada.

De rutina se hacen coloraciones de gram y giemsa y cultivos aeróbicos cuantitativos. En situaciones especiales, bajo sospecha clínica y/o epidemiológica o en pacientes inmunosuprimidos, pueden hacerse coloraciones como Ziehl Neelsen para TBC, Kinyoun para Nocardia spp., metenamina plata y/o Gram Weigert para Pneumocistis carinii. Si existe etiología polimicrobiana hay que tener en cuenta el índice bacteriano de Johanson que resulta de aplicar logaritmo decimal a cada recuento individual y sumarlos. Si es mayor a 6 se correlaciona en un 77 % con neumonía.

**FALSOS (-) Y (+) DEL BAL Y CE****FALSOS NEGATIVOS**

- ☞ Estadios tempranos de la infección o tratamiento antibiótico
- ☞ Enclavamiento inapropiado del broncoscopio.
- ☞ Pacientes con vías colapsadas (pobre retorno del BAL)
- ☞ Errores metodológicos al diluir o procedimientos inapropiados o retardo en el Procesamiento

**FALSOS POSITIVOS**

- ☞ Aspiración de secreciones a medida que el fibrobroncoscopio avanza
- ☞ Anormalidades anatómicas

**PRUEBAS DE SENSIBILIDAD**

Las más conocidas son:

- Antibiograma por difusión
- Determinación de Concentración inhibitoria mínima (CIM) y Concentración bactericida mínima (CBM)
- Determinación de poder inhibitorio del suero (PIS) y Poder bactericida del suero (PBS)
- Curva de muerte
- Velocidad bactericida del suero

El antibiograma es la primer prueba que se realiza y permite predecir si hay o no inhibición en el crecimiento bacteriano por determinado ATB. También puede servirnos en el momento de tipificar a un germen (importancia de las resistencias naturales) o en el momento de saber que mecanismo de resistencia está mostrando esa bacteria y así poder predecir como se comportará frente a una familia de ATB (por ej. CCI) o antibióticos relacionados.

Si se quiere saber la concentración verdadera de ATB que inhibe a esa bacteria hay que realizar la CIM.

Si se quiere saber la concentración que efectivamente mata a una bacteria debo determinar la CBM.

Si nos interesa saber que es lo que está pasando in vivo con determinado par Bacteria-ATB, lo que se debe determinar es PBS-PIS.

Todas estas pruebas son de punto final lo que quiere decir que se obtienen luego de un tiempo fijo (generalmente 24 hs) sin saber que fue lo que sucedió en todo ese lapso. La información de que le pasa a una dupla bacteria/ATB a medida que pasa el tiempo la podemos obtener de la curva de muerte ó de la velocidad bactericida del suero.

**ANTIBIOGRAMA:**

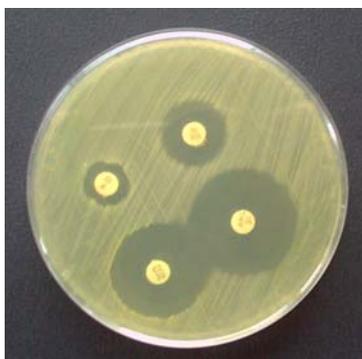
Permite dividir a las bacterias en 3 categorías según su comportamiento frente al ATB:

- Sensible: puede usarse el ATB a las dosis habituales teniendo en cuenta la infección y la localización de esta.
- Resistente: las bacterias no son inhibidas por las concentraciones fisiológicas alcanzadas.
- Moderadamente sensibles: para ATB no tóxicos puede aumentarse la dosis y existir respuesta ó usarse el ATB si se concentra la droga en el sitio de acción (como ocurre con Ampicilina en IU por Enterococo).

Para establecer estas categorías se tienen en cuenta criterios farmacocinéticos (que concentraciones fisiológicas de ATB se pueden alcanzar), clínicos y poblacionales ó epidemiológicos (cambios regionales en los puntos de corte por predominar ciertas resistencias). Para definir a una cepa (S, I o R) a un ATB dado, se miden los halos de inhibición y se cotejan con las tablas del NCCLS/CLSI (y modificaciones locales de SADEBAC). Las categorías surgen de curvas (escatogramas) que relacionan valores de halos con sus correspondientes valores de CIM para cada ATB.

Limitaciones:

- ☞ Microorganismos fastidiosos para los cuales no existe estandarización.
- ☞ Necesidad de establecer la bactericidia por el estado del paciente (por ej. pacientes neutropénicos).
- ☞ Falla en la detección por baja expresión de la resistencia (por ej. en meti<sup>R</sup> cepas border line (métodos complementarios) ó por resistencia inducible.



ANTIBIOGRAMA REALIZADO  
SEGÚN MÉTODO DE KIRBY  
BAUER Y NORMAS DE NCCLS  
(CLSI)

El antibiograma no siempre permite predecir la correlación exacta entre los resultados in vitro y la respuesta clínica debido a factores que influyen en la interacción de los agentes antimicrobianos y los microorganismos en los pacientes

Factores que afectan la correlación del antibiograma y la respuesta clínica

- Factores del agente antimicrobiano
  - Farmacocinética
  - Unión a proteínas del plasma
  - Vías de administración
  - Acción bacteriostática o bactericida
  - Concentración en sitio de infección
- Factores del huésped
  - Enfermedad de base y estado inmunológico
  - Formación de absceso o presencia de cuerpo extraño
  - Función renal y hepática
  - Cumplimiento del tratamiento
- Factores del microorganismo
  - Virulencia y concentración de organismos
  - Infección mixta
  - Desarrollo de resistencia durante el tratamiento

El antibiograma no sólo es útil para saber que tratamiento debemos dar a un paciente sino que también, en muchos casos, es de utilidad para corroborar la identificación de una bacteria, para predecir posibles mecanismos de resistencia que puedan aparecer durante el tratamiento o para alertarnos en caso que se estén observando patrones de resistencia no habituales.

Esto es lo que se denomina lectura interpretada del antibiograma y nos permite:

1. Caracterizar el fenotipo de R de un MO ya identificado frente a ATBs de una misma familia o relacionados por mecanismos de R comunes
2. Deducir el mecanismo bioquímico y molecular implicado
3. Inferir y modificar el fenotipo previamente establecido por el antibiograma
  - 3.1 ATB poco afectado por el mecanismo de R
  - 3.2 Inferir S de ATB no incluidos en el ATBgrama

Empleando la lectura interpretada podremos definir los perfiles epidemiológicos de los distintos mecanismos de R: presencia de uno ó más mecanismos en alguno de los aislamientos, grado de expresión de la resistencia (inducible o constitutiva), etc. Ej: SAMR y multiR asociada o BLEE por CTX-M que afecta más a CTX que CAZ a diferencia de TEM ó SHV

### **CIM-CBM:**

La CIM se define como la mínima concentración de ATB que inhibe el crecimiento bacteriano.

La CBM se define como la mínima concentración de ATB que mata el 99,9 % de la población bacteriana.

Las 2 determinaciones se hacen a las 24 hs pero, en algunos casos, la evolución del paciente va a depender de la bactericidia durante las primeras horas siendo entonces mejor la determinación de curva de muerte.

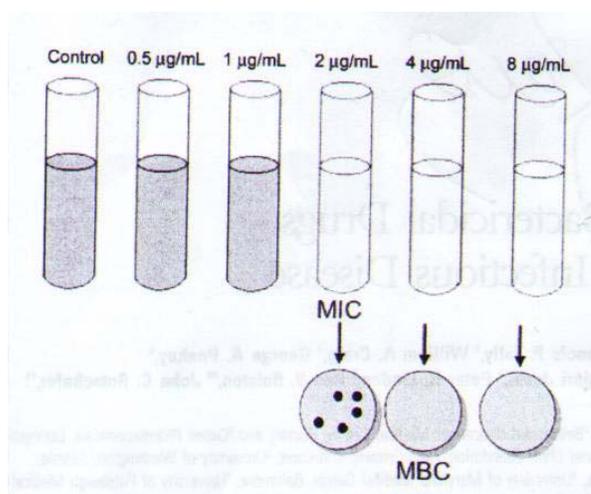
¿Cuándo son necesarias?

- \* Dato intermedio de antibiograma e imposibilidad de uso de otra droga alternativa.
- \* Microorganismos en los que sí ó sí hay que testear sensibilidad por CIM. Por ej.:
  - meningococo para el cual no hay un antibiograma estandarizado
  - neumococo y cefotaxima que no hay screening por disco ó confirmación del screening con Oxa que no distingue entre I y S.
- \* Pacientes con endocarditis, sepsis ó meningitis donde los resultados van a ser más fiables que los obtenidos por difusión.
- \* Casos donde a pesar de una terapia efectiva según sensibilidad del antibiograma no hay mejoras.

Cuando la relación  $\frac{CBM}{CIM} \geq 32$  se dice que las bacterias son tolerantes y por lo tanto no

terminan de morir.

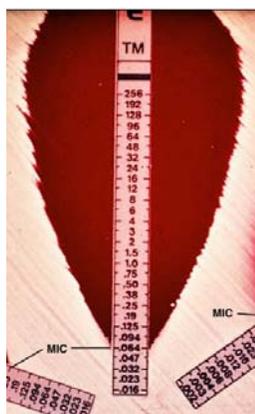
En caso de que exista tolerancia puede ser necesaria la administración de otro ATB que sinergice la acción del primero (sobre todo en las primeras semanas de tratamiento).



DETERMINACIÓN  
DE CIM Y CBM

Actualmente están disponibles unas tiras reactivas impregnadas con un gradiente de concentración de ATB que permiten realizar la CIM en forma mucho más rápida y práctica. La desventaja que tienen es que no permiten la determinación de la CBM.

Este método es el E-test pero lamentablemente es muy costoso y no se encuentra disponible en todos los laboratorios.



MÉTODO E TEST  
PARA LA  
REALIZACIÓN DE  
CIM

**PIS-PBS:**

Es una prueba que intenta ayudar en el tratamiento de infecciones severas tipo endocarditis, osteomielitis, bacteremia por gram (-) en pacientes neutropénicos, exacerbaciones en pacientes fibroquísticos, etc.

**Ventajas:**

- \* Tiene en cuenta la concentración real de ATB que se alcanza en el paciente (evaluándose la farmacocinética de éste)
- \* Comprobar interacciones entre ATB.
- \* Procesos infecciosos donde no hay puntos de corte útiles,
- \* Permite modificar dosis e intervalos entre dosis.
- \* Cambiar la vía de administración (por ej. en osteomielitis donde el tratamiento es a largo plazo para pasar de parenteral a oral).

**Desventajas:**

- \* No tiene en cuenta la localización y severidad de la infección.
- \* Patogenicidad e inóculo bacteriano (evalúa a todos los microorganismos por igual).
- \* Se usan concentraciones constantes de ATB cuando en realidad varían con el tiempo.
- \* Presencia en suero de proteínas plaquetarias con actividad antibacteriana (por lo tanto se estaría sobrestimando el PBS).
- \* Falta de criterios interpretativos (los puntos de corte establecidos para cada patología son estadísticos).

***Generalmente las determinaciones se hacen en pico y en valle. Que muestra conviene tomar (en pico o en valle) depende de la farmacodinamia del ATB.***

Los antibióticos betalactámicos tienen una cinética de muerte sobre la bacteria que depende del tiempo (es importante que el ATB esté en buenos niveles la mayor parte del tiempo posible) por lo tanto debe tomarse en pico y en valle.

Los antibióticos aminoglucósidos tienen una cinética de muerte que depende de la concentración, por lo tanto es importante que se alcancen buenos niveles en el pico.

Usos del PBS(Tabla en página siguiente)

	PICO	VALLE	VALOR PREDICTIVO
<b>Endocarditis infecciosa</b>	$\geq 1/64$	$\geq 1/32$	100 % cura bacteriológica
	$\geq 1/32$		98,9 % éxito
	$< 1/32$		28,6 falla terapéutica
<b>Osteomielitis y artritis</b>			
	* Aguda	$\geq 1/2$	100 % cura
		$< 1/2$	71 % falla
	* Crónica	$\geq 1/16$	90 % cura
		$< 1/16$	71 % falla
		$> 1/4$	100 % cura
		$< 1/2$	100 % falla
<b>Vía parenteral a oral</b>	$> 1/8$		29/30 éxito
<b>Bacteremia por BGN en</b>			
<b>Oncológicos</b>			
*PMN $> 1000/\text{mm}^3$	$\geq 1/8$		98 % evolución clínica
	$< 1/8$		83 % falla
*PMN $< 100/\text{mm}^3$	$\geq 1/16$		87 % evolución
	$< 1/16$		67 % falla
<b>Fibrosis quística</b>		$\geq 1/128$ ( $> 18$ años)	96 % cura
		$\geq 1/64$ ( $< 18$ años)	96 % cura
		$\leq 1/16$	100 % falla

### CURVA DE MUERTE:

Permite ver que es lo que sucede con la bacteria y el ATB a lo largo del tiempo. Se usa una concentración de ATB que es 4 veces la CIM y se evalúa % de muerte a distintos tiempos durante 24 horas.

Si la bacteria se muere normalmente ya a las 4 horas queda menos del 0,1 % de sobrevivientes.

Si muere lentamente pero a las 24 horas queda menos del 0,1 % de sobrevivientes se dice que es tolerante.

Si muere rápidamente pero el inóculo permanece alto ( $> 0,1$  % de sobrevivientes) se dice que es persistente.

Es útil para comprobar interacción ATB.

**VELOCIDAD BACTERICIDA:**

Es lo mismo que curva de muerte pero con el suero del paciente, por lo tanto se van a evaluar las mismas variables que en el PBS.

Todavía no esta estandarizado y por lo tanto no existen puntos de corte definidos.



**CURVA DE MUERTE Y VELOCIDAD BACTERICIDA SÓLO DEBEN REALIZARSE ANTE EVIDENCIA DE FALTA DE RESPUESTA**

Ya llegando al final, a modo de resumen, y para que tengan como recordatorio, repaso o ayuda de todo lo explicado anteriormente y algo más, una tabla donde figuran dónde, cuándo y cómo mandar y conservar algunas muestras.

**REPASEN, RELEAN EL TEXTO Y LUEGO MIREN LA TABLA**

MUESTRA	RECOLECCIÓN		TIEMPO Y TEMPERATURA	
	INDICACIONES	Envase y/o vol. mínimo	ENVÍO	CONSERVACIÓN
<b>ABSCESO</b>	Limpiar la superficie con S.F. ó alcohol 70 %			
- ABIERTO	Aspirar de la zona más profunda con jeringa y aguja desde piel sana.	Tubo estéril con tapa a rosca.	< 2hs, TA	< 24 hs; TA
- CERRADO	Aspirar el material con jeringa y aguja y transferir todo a un medio de transporte y/o vial para anaerobios (accediendo por piel sana).  <b>Comentarios:</b> el muestreo del área superficial puede introducir bacterias colonizantes no involucradas en el proceso infeccioso.	Tubo estéril con tapa a rosca + Transporte para Anaerobios	< 2hs, TA	< 24 hs; TA
<b>CATETER</b>	* Limpiar la piel entorno a la inserción del catéter con alcohol 70 %. * Remover el catéter asepticamente y cortar los 5 cm distales de la punta. Colocar en tubo estéril. * Transportar directamente al laboratorio para prevenir que la muestra se seque.  <b>IMP!!!</b> Previo a la extracción del catéter tomar una muestra de sangre para hemocultivo de vena periférica del otro brazo.	Tubo estéril con tapa a rosca	<15 min;TA	< 24 hs; 4 ° C > 24 hs;4 ° C en 1 ml de S.F
<b>CELULITIS</b>	* Limpiar la superficie con S.F ó alcohol 70 %. * Aspirar en el centro del área de máxima inflamación con aguja fina y jeringa estériles. Transferir al tubo asepticamente. * Si la muestra es escasa, inyectar S.F estéril y aspirar el material con aguja y jeringa estériles. Transferir al tubo asepticamente.  <b>Comentarios:</b> la recuperación de patógenos potenciales es sólo del 25 - 35 %. En muestras escasas, enviar la jeringa y aguja encapuchadas.	Tubo estéril con tapa a rosca	<15 min;TA	< 24 hs; TA
<b>FISTULA</b>	Ver celulitis.	Tubo estéril con tapa a rosca Jeringa y aguja encapuchadas.		
<b>GENITAL FEMENINO</b>				
	<b>IMP!!!</b> En todas las muestras para virus y Chlamydias se requieren recolección y medios de transporte adecuados			
<b>L. AMNIOTICO</b>	* Aspirar vía amniocentesis, cesárea o catéter intrauterino. * Transferir el liquido al transporte. * Colocar 3 a 4 gotas en el transporte p/ Chlamydias si lo solicitan. * No enviar hisopados o aspirados vaginales.	Tubo estéril con tapa a rosca +/- transp. p/ anaerobios; > 1 ml Medio para Chlamydias	< 15 min; TA	< 24 hs; TA
<b>BARTOLINO</b>	Ver absceso			
<b>CERVIX</b>	P/ HPV, HSVI/II, <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma urealiticum</i> y <i>Chlamydia trachomatis</i> .  * Visualizar el endocervix con espéculo sin lubricante. * Remover mucus y/o secreciones del cuello con un hisopo y descartar. * Rotar vigorosamente dos hisopos estériles por el endocervix.  <b>Comentarios:</b> cultivos virales y de chlamydias requieren transportes especiales.	Hisopo +/- medios para : Chlamydias Mycoplasma - Ureaplasma	< 2hs; TA	< 24 hs; 37°C
<b>ENDOMETRIO</b>	* Recolectar aspirado transcervical por un catéter telescópado. * Transferir el total del contenido a un tubo con tapa a rosca.	Tubo estéril con tapa a rosca > 1 ml	< 2 hs; TA	< 24 hs; TA
<b>CORDON Y/O PLACENTA</b>	* Enviar una porción de tejido en tubo estéril * Si se obtiene por cesárea, transferir inmediatamente al medio de transporte para anaerobios	Tubo estéril y/o medio para anaerobios.	< 2 hs; TA	< 24 hs; TA

MUESTRA	RECOLECCIÓN		TIEMPO Y TEMPERATURA	
	INDICACIONES	Envase y/o vol. mínimo	ENVÍO	CONSERVACION
<b>GENITAL FEMENINO (cont)</b>				
<b>URETRA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Remover el exudado del orificio uretral</li> <li>* Juntar el material de descarga con hisopo masajeando la uretra contra la sínfisis púbica a través de la vagina.</li> <li>* Insertar un hisopo aprox. 2 cm dentro de la uretra, rotándolo 2 seg e inocular medio p/ Chlamydias en caso que sea requerido.</li> </ul> <p><b>Comentarios:</b> obtener la muestra 1 hora después de haber orinado. Si no se puede obtener muestra; lavar la uretra externa con jabón de povidona, enjuagar con agua y luego introducir el hisopo.</p>	Hisopo  Medio para Chlamydias Micoplasma y Ureaplasma.	< 2 hs; TA  FREEZER < 2 hs; TA	< 24 hs; TA  < 24 HS, 37 °C
<b>VAGINA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Remover el exceso de secreciones o descarga vaginal.</li> <li>* Obtener secreciones de la mucosa vaginal con hisopo estéril.</li> <li>* Obtener un segundo hisopo para coloraciones.</li> </ul> <p><b>Comentarios:</b> remitir junto a los 2 hisopos (preferentemente sin transporte) 2 extendidos en portaobjetos.</p>	Hisopo 2 portaobjetos	< 2 hs; TA	< 24 hs; TA en medio de tpte
<b>D.I.U</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Realizar un hisopado endocervical previo a la extracción del DIU.</li> <li>* Extraer asépticamente el DIU y transferirlo a un frasco estéril seco.</li> <li>* Remitir al laboratorio.</li> </ul>	Frasco para urocultivo	< 2hs; TA	< 24 hs; 37°C
<b>GENITAL FEMENINO O MASCULINO</b>				
<b>LESION</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Limpiar la lesión con S.F estéril y remover la superficie con bisturí.</li> <li>* Permitir que se acumule el trasudado.</li> <li>* Luego de presionar la base de la lesión, hisopar el exudado con hisopo estéril.</li> </ul> <p><b>Comentarios:</b> P/ sífilis comunicarse con el laboratorio.</p>	Hisopo	< 2 hs; TA	< 24 hs; TA
<b>GENITAL MASCULINO</b>				
<b>PROSTATA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Limpiar el glande con agua y jabón.</li> <li>* Masajear la próstata a través del recto.</li> <li>* Recolectar el fluido en un tubo estéril o con un hisopo estéril.</li> </ul> <p><b>Comentarios:</b> pueden obtenerse resultados más relevantes si se cultivan, a la vez, muestras de orina obtenidas antes y después del masaje prostático.</p>	Hisopo ó tubo estéril	< 2 hs; TA	< 24 hs; TA
<b>URETRA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Obtención matutina de la muestra con retención urinaria</li> <li>* Insertar los hisopos aprox. 2 cm dentro de la uretra, rotándolos al menos 2 seg.</li> </ul>	Hisopo Medios p/Chlamydias Micoplasma-ureaplasma	< 2 hs; TA  FREEZER < 2hs; TA	< 24 hs; 37 °C  < 24 hs; 37°C
<b>HECES</b>				
<b>Rutina</b>	Colocar directamente en un frasco limpio y seco. Remitir al laboratorio de microbiología en una hora.	Frasco de urocultivo > 2 gr.	NO CONSERVAR < 1 h ; TA	< 24 hs, 4°C
<b>C. difficile</b>	En heces líquidas o blandas, transferir directamente a un frasco. No deben procesarse heces secas o formadas	Frasco de urocultivo > 5 ml	< 1 h; TA	3 días, 4°C > 3 días; - 70°C
<b>HERIDA</b>	Ver absceso <b>Comentarios:</b> no cultivar heridas de mordeduras animales de < 12 hs (los agentes usualmente no se recuperan) a menos que sean en la cara o manos o estén presentes signos de infección.			

MUESTRA	RECOLECCIÓN		TIEMPO Y TEMPERATURA	
	INDICACIONES	Envase y/o vol. mínimo	ENVÍO	CONSERVACIÓN
<b>HISOPADO RECTAL</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Introducir el hisopo 2 y 1/2 cm dentro del esfínter anal.</li> <li>* Rotar el hisopo muestreando las criptas anales.</li> </ul> <p><b>Comentarios:</b> Para <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Shigella</i> spp., HSV y portación de Streptococcus beta hemolítico B y <i>Enterococos</i> spp o para pacientes en los que no se puede obtener muestra. Las heces deben ser evidentes en el hisopo.</p>	Hisopo	< 1 h; TA	< 24 hs, TA
<b>L.C.R</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Limpiar el sitio de punción con solución yodada.</li> <li>* Insertar aguja e/ L3-L4, L4-L5 o L5-S1.</li> <li>* Recolectar al menos 2 tubos de LCR, sin heparina.</li> <li>* 1º tubo p/ Bacteriología</li> </ul> <p><b>Comentarios:</b> Obtener también hemocultivos. Si se obtiene sólo un tubo, remitirlo primero a bacteriología. <b>SIN ANTICOAGULANTE</b></p>	Tubo estéril con tapa a rosca  Bacterias: > 1 ml Hongos: > 2 ml Baar: > 2 ml Virus: > 1 ml	BACTERIAS-HONGOS-BAAR <15 min;TA (no refrigerar)	< 2 hs, TA
<b>L. ABDOMINAL ASCÍTICO, PERICÁRDICO, SINOVIAL, ARTICULAR, PERITONEAL, PLEURAL</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Desinfectar la piel alrededor del sitio de punción con solución yodada</li> <li>* Obtener la muestra por punción percutánea o cirugía.</li> <li>* Llevar inmediatamente al laboratorio.</li> <li>* Siempre remitir la mayor cantidad de líquido posible, nunca un hisopo embebido en el líquido.</li> </ul> <p><b>Comentarios:</b> Todos los líquidos <b>CON ANTICOAGULANTE</b>. Alma - cenar el líquido pericárdico a 4°C si va a demorarse el procesamiento. Para cultivos fúngicos guardar los líquidos a 4 °C.</p>	Tubo estéril con tapa a rosca con heparina  >1ml , L ascítico : 10 ml  Inocular en botella de hemo - cultivo según vol. (Ver Hemo)	< 15min; TA	< 2 hs; TA
<b>ORINA: chorro medio</b>				
<b>MUJER</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Colocar un tampón vaginal o torunda de algodón</li> <li>* Lavar genitales externos con agua y jabón nuevo. Enjuagar con agua corriente y luego con S.F, no secar.</li> <li>* Descartar la porción inicial y juntar el chorro medio en un frasco estéril.</li> </ul>	Frasco para urocultivo  B.A.A.R: 3 muestras	< 2 hs; TA	< 24 hs; 4 °C
<b>HOMBRE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Retraer el prepucio y lavar el glande con agua y jabón nuevo. Enjuagar con agua corriente y luego con S.F no secar.</li> <li>* Descartar la porción inicial y juntar el chorro medio en un frasco estéril.</li> </ul>	Frasco para urocultivo  B.A.A.R: 3 muestras	< 2 hs; TA	< 24 hs; 4 °C
<b>ORINA: primer chorro</b>				
<b>MUJER</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Solamente en caso de sospecha de uretritis.</li> <li>* Juntar los primeros 10 ml de la micción, previa higiene como para el chorro medio</li> </ul>	Frasco para urocultivo Medios p/Chlamydia Micoplasma - Ureaplasma	< 2 hs; TA	< 2 hs; TA
<b>HOMBRE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Juntar los primeros 10 ml de la micción, previa higiene como para el chorro medio</li> </ul>	Frasco para urocultivo Medios p/Chlamydia Micoplasma - Ureaplasma	< 2hs; TA	< 24 hs; 37°C
<b>ORINA: por sonda</b>				
<b>SONDA VESICAL</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Desinfectar la sonda con solución yodada</li> <li>* Clampear a 5 cm del meato urinario la sonda durante 5 a 15 min.</li> <li>* Recolectar 20 ml de orina por punción con aguja y jeringa.</li> <li>* Transferir a frasco estéril.</li> <li>* Indicar el modo de obtención de la muestra.</li> </ul>	Frasco para urocultivo	< 2 hs; TA	< 24 hs; 4 °C
<b>SONDA VESICAL</b>	No debe cultivarse porque el crecimiento representa flora colonizante de la uretra distal.			

MUESTRA	RECOLECCIÓN		TIEMPO Y TEMPERATURA	
	INDICACIONES	Envase y/o vol. mínimo	ENVÍO	CONSERVACION
<b>SANGRE</b>	Desinfectar la botella con alcohol 70 % y esperar 1 min.	2 botellas /set/ <= 24hs	< 2hs, TA	BACTEC
<b>HEMOCULTIVO CONVENCIONAL</b>	Para desinfectar el sitio de veno punción: * Limpiar con alcohol 70 % y dejar secar. * Limpiar con solución yodada y dejar secar. * No volver a palpar la vena. * Tomar la muestra con aguja y jeringa estériles. Transferir aséptica - mente a las botellas. * Cada venopunción es un hemocultivo, independientemente de las bote - llas que se llenen.	Adulto: 8 -10 ml / botella  Pediatríco:1 a 3 ml / botella		
<b>LISIS- CENTRIFUGACION</b>	Útil p/ bacterias intracelulares o fastidiosas, micobacterias, hongos filamentosos y cryptococcus spp y/o hemocultivos cuantitativos. * Avisar previamente al laboratorio. * Obtener 10 ml de sangre por técnica estéril (de vena y/o a través del catéter) y colocar en tubo con saponina y anticoagulante. * Mezclar para que entren en contacto. * Procesar dentro de las 2 horas de extraídos.	Tubo estéril con tapa a rosca + saponina + heparina	< 2hs, TA	< 2hs, TA
<b>HEMOCULTIVOS CUALI/CUANTITATIVOS</b>	* En caso de sospecha de infección del catéter, extraer igual volumen de sangre de vena periférica y del catéter. Inocular botellas de hemocul - tivos, que se introducirán al mismo tiempo en el BACTEC y realizar lisis-centrifugación a las mismas muestras.  <b>Comentarios:</b> * Sepsis aguda: 2 a 3 muestras de sitios separados cada 10 minutos. * Endocarditis aguda: 3 muestras de 3 sitios dentro de 1 - 2 hs. * Endocarditis subaguda: 3 muestras de 3 sitios tomados con 15 min de diferencia; si a las 24 hs son negativos obtener un nuevo set. * Fiebre de origen desconocido: 2 ó 3 muestras tomados cada 1 h; si son negativos a las 24 hs obtener un set más.	Tubo estéril con tapa a rosca + saponina + heparina		
<b>TEJIDO</b>	* Obtener por biopsia desinfectando con solución yodada. * Remitir en tubo estéril con tapa a rosca; si la muestra es escasa agregar gotas de S.F para cubrirla. * En caso que se requiera, colocar en medio para anaerobios.	Tubo estéril con tapa a rosca  Transporte para anaerobios.	< 15 min; TA	< 24 hs; TA
<b>TEJIDO GANGRENA</b>	Ver absceso			
<b>TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR</b>				
<b>B.A.L, mini BAL, Lavadobronquial, Cepillo protegido</b>	* Recolectar la muestra proveniente del fibrobroncoscopio en un frasco estéril con tapa a rosca. * Instilar 100 ml de S.F en alicutas de 20 ml. * 1º porción para hongos y micobacterias 2º para gérmenes comunes * Enviar el cepillo en su envoltorio original, previa desinfección de la parte exterior con alcohol al 70 %.  <b>Comentarios:</b> no aspirar secreciones traqueales ni instilar lidocaina a través del canal del fibrobroncoscopio antes de realizar el BAL. Para el mini BAL, no se requiere fibrobroncoscopio y el volumen instilado es de 20 ml. Si se realiza cepillado, obtenerlo antes del BAL.	Frasco estéril con tapa a rosca	< 2 hs; TA	< 2 hs; TA
<b>ESPUTO</b>	* Recolectar la muestra bajo la supervisión de la enfermera o el médico. * Extraer previamente las prótesis dentales. * Enjuagar la boca con agua o solución bicarbonatada. * Instruir al paciente para que tosa profundamente para obtener un espécimen del tracto respiratorio bajo. * Puede hacerse inducción previa nebulización con S.F.	Frasco estéril, boca ancha, tapa a rosca  B.A.A.R: 3 muestras	< 2 hs; TA  < 2 hs; 4 °C	< 24 hs; 4°C  < 24 hs; 4°C
<b>ASPIRADO TRAQUEAL</b>	* Por medio de una trampa conectada en la forma más aséptica posible, aspirar las secreciones del tubo de traqueostomía. * Remitir inmediatamente la trampa cerrada al laboratorio.		< 2 hs; TA	< 2 hs; TA

MUESTRA	RECOLECCIÓN		TIEMPO Y TEMPERATURA	
	INDICACIONES	Envase y/o vol. mínimo	ENVÍO	CONSERVACIÓN
<b>TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR</b>				
<b>NASAL</b>	* Insertar aproximadamente 2 cm en las narinas un hisopo prehumedecido con S.F. * Rotar el hisopo contra la mucosa nasal. <b>Para estudios de portación de Staphylos o entero</b>	Hisopo con transporte	< 2 hs; TA	< 24 hs; TA
<b>ULCERA DECUBITO</b>	* Limpiar la superficie con S.F. * Si no se puede biopsiar, aspirar con jeringa y aguja la base de la lesión. No recolectar el exudado superficial. * Colocar la muestra en un medio de transporte adecuado.  <b>Comentarios:</b> El hisopado de la úlcera brinda poca información clínica. La biopsia de tejido o el aspirado con aguja, son las muestras de elección.	Tubo estéril con tapa a rosca  Enviar jeringa y aguja encapuchadas en muestras escasas.  Para anaerobios transporte adecuado	< 2 hs, TA	< 24 hs; TA
<b>MUESTRAS PARA PCR O CULTIVOS ESPECIALES</b>	Contactarse con el laboratorio de bacteriología para conocer en cada caso la forma apropiada de obtención y conservación de las muestras.			

**Abreviaturas:** B.A.A.R: bacilos ácido alcohol resistentes; B.A.L: lavado bronquiolo alveolar; D.I.U: dispositivo intrauterino; H.P.V: papiloma virus; H.S.V: herpes virus; P.C.R: reacción en cadena de la polimerasa; S.F: solución fisiológica; T.A: temperatura ambiente.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1 Isenberg H.D. (eds). 1992. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
2. P. Murray, editor in chief. Manual of Clinical microbiology. 7ª Edition, 1999, ASM Press, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 3 J. Michael Millar, A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology. A.S.M Press, 1998, American Society for Microbiology. Washington DC
- 4 Isenberg M.D., Schoenknecht F.D., von Graevenitz A. 1979. Cumitech 9, Collection and Processing of Bacteriological Specimens. Coordinating Ed.: Robin 5.3. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 5 S. Sharp, Lower respiratory tract infection. Cumitech 7B. 2004, ASM Press, American Society for Microbiology, Washington, D.C
- 6 Clarridge J.E., Pezzlo M.T. and Vosti K.L. 1987. Cumitech 2A, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Coordinating Ed.: A. S. Weissfeld American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 7 Janeth Hindler- Coordinating Editor . Cumitech 1B. Blood Culture III. 1997. ASM Press. American Society for Microbiology. Washington DC.