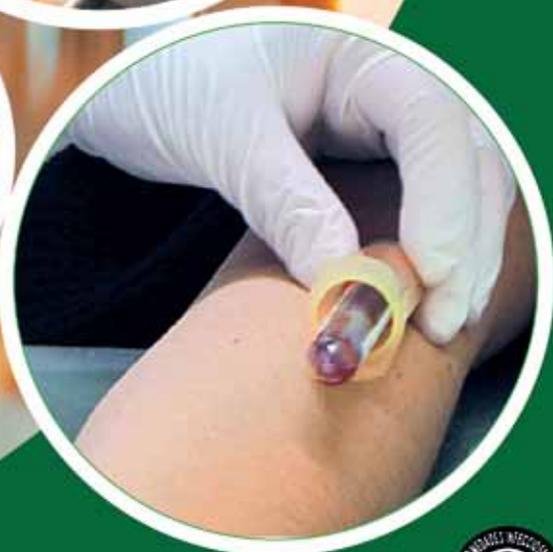




MANUAL DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS PARA EXAMENES BACTERIOLÓGICOS



Carlos A. Javier-Zepeda - 2014





MANUAL
DE OBTENCION DE MUESTRAS PARA
EXÁMENES BACTERIOLÓGICOS

Carlos A. Javier-Zepeda

616.014 Javier Zepeda, Carlos A.
J41 Manual de obtención de muestras para exámenes bacteriológicos / Carlos A.
C.H. Javier Zepeda.-Instituto de Enfermedades infecciosas y Parasitología Antonio Vidal/
_(Tegucigalpa); (Lithocom), (2014)
72p.:fotos, il

ISBN: 97899992698846

1.- BACTERIAS. 2.- ENFERMEDADES BACTERIANAS

2014

Reservados todos los derechos

Ninguna parte de este Manual o su totalidad puede ser reproducida, transmitida o almacenada por cualquier medio electrónico o mecánico, fotocopia, grabación u otro sistema de reproducción de información sin el permiso previo por escrito del autor titular del Copyright.

Impresión: LITHOCOM, Tegucigalpa, Honduras

PRÓLOGO

En todas las áreas de laboratorio de diagnóstico existe muy poca comunicación entre el personal médico, de enfermería, estudiantes de medicina (que se desempeñan en las instituciones académicas) y el personal técnico y profesional de los laboratorios. Se conoce muy poco sobre la debida preparación del paciente previo a la obtención de muestras para diversos estudios y casi es nulo el adiestramiento en las técnicas apropiadas para obtener las mismas para su respectivo análisis. Aunque es más fácil generalizar y hacer recomendaciones breves para los estudios químicos, inmunológicos y hematológicos, el problema es considerablemente más complejo cuando se trata de muestras para estudios microbiológicos que en muchos de los casos solo se pueden obtener una vez.

Esta falta de comunicación y conocimiento a quien afecta directamente es al paciente, quien no va a recibir el beneficio de un estudio apropiado si la muestra no es seleccionada, obtenida, preservada, transportada y procesada siguiendo las recomendaciones de cada caso particular.

La información sobre este tema se encuentra dispersa en la literatura y existen algunas monografías y manuales al respecto. Este Manual tiene como objetivo condensar información práctica sobre la obtención de muestras para estudios bacteriológicos, acompañándola de un razonamiento clínico y anatómico cuando son pertinentes para comprender la forma de obtener dichas muestras.

Al final de cada capítulo se incluyen algunas referencias generales y específicas que permiten al interesado ampliar la información resumida.

Carlos A. Javier-Zepeda

CONCEPTOS GENERALES

El primer paso para hacer el diagnóstico etiológico de las enfermedades infecciosas es la correcta selección, obtención, preservación, transporte y manejo inicial de las muestras clínicas que se envían al laboratorio. Si no se presta atención a estas recomendaciones, aunque el laboratorio haga un trabajo esmerado, pueden obtenerse resultados clínicamente inadecuados. Esto es un problema mayor cuando se trata de muestras que están contaminadas con organismos de la microbiota normal, como esputo, heces, secreciones genitales, etc., donde los agentes patógenos pueden estar ocultos por otras bacterias, si la muestra no es manejada adecuadamente.

Las recomendaciones para la obtención adecuada de muestras deben ser del conocimiento de todas las personas involucradas en la atención de los pacientes, desde el médico como cabeza del equipo de trabajo, enfermeras, estudiantes de medicina, personal en los laboratorios y el paciente mismo. En particular, el personal de Bacteriología debe ejercer su responsabilidad asegurando la calidad de las muestras recibidas, solicitando un nuevo espécimen cuando no se cumple con los requisitos establecidos. La evaluación de la calidad de las muestras clínicas es uno de los procedimientos de control de calidad más importantes en el laboratorio bacteriológico.

La selección y manejo de las muestras clínicas debe tomar en cuenta el examen que se va a hacer con las mismas. En la mayor parte de los casos el médico está interesado en la búsqueda de agentes patógenos que pueden observarse directamente o cultivarse en medios comunes y que sobreviven en una atmósfera expuesta al aire, pero existen situaciones donde los organismos que se pretende demostrar requieren de un manejo especial de la muestra o de la preparación anticipada de procedimientos y medios de cultivo especiales. Un caso particular es el interés en demostrar bacterias anaeróbicas estrictas, donde la muestra debe ser protegida de contacto con el aire ambiental, desde que se

obtiene hasta que se procesa en el laboratorio. En los casos que no son del trabajo rutinario, es necesario establecer una comunicación estrecha con el laboratorio.

Muchas bacterias comunes que causan enfermedad soportan las condiciones ambientales por un tiempo prudencial, otras necesitan ser protegidas mediante el uso de medios de transporte, sobre todo aquellas muestras contaminadas con organismos de la microbiota normal; lo ideal es llevarlas prontamente al laboratorio. El calor excesivo tiende a dañarlas, pero eso no quiere decir que toda muestra debe ser refrigerada, pues algunas bacterias también pueden perder su vitalidad cuando son expuestas al frío.

Existe mucha información acerca de la forma en que deben obtenerse y manejarse las muestras para estudios bacteriológicos. Entre menos manipulación hay, mejor se conservan.

Cuando es posible aspirar la muestra con una jeringa, debe usarse este método. La misma jeringa puede servir como recipiente de transporte, teniendo el cuidado de tapar la aguja con el protector y dejarlo puesto. Nunca se debe tratar de doblar la aguja ni enviarla expuesta. Este es el procedimiento usual para obtener pus de abscesos y líquidos de cavidades o derrames.

El uso de hisopos con diversos tipos de fibra (algodón, Dacron®, alginato de calcio, etc.), es un método usado frecuentemente para obtener muestras de mucosas y lesiones superficiales de la piel que no pueden ser aspiradas con una jeringa, con la desventaja de que el hisopo absorbe parte de la muestra y si esta es escasa, se compromete la calidad del examen. Cuando se usan hisopos de algodón, el contenido de ácidos grasos en esta fibra natural, puede afectar algunas bacterias sensibles. No se deben usar hisopos si se pretende investigar *Mycobacterium tuberculosis*.

El uso de frascos estériles de boca ancha con tapadera de rosca es conveniente para diversos tipos de muestras, como la orina. Es muy importante que estos frascos, además de estériles, estén perfectamente limpios, pues la presencia de bacterias, aún muertas, causa confusión,

porque pueden verse en las coloraciones directas de la muestra, pero el cultivo resulta negativo. Las muestras de heces para cultivo no requieren de un recipiente estéril, pero es importante que esté limpio y bien tapado.

Algunos exámenes bacteriológicos necesitan que la muestra sea inoculada directamente en los medios de cultivo, como es el caso de los cultivos de sangre y médula ósea, algunos líquidos de cavidades internas o ciertas muestras que son escasas, por ejemplo algunas secreciones de los ojos. También cuando se pretende recuperar bacterias que son muy lábiles a las condiciones ambientales, como *Bordetella*. En esta forma se aprovecha al máximo el espécimen y se disminuyen los riesgos de contaminación.

Las muestras que se envían al laboratorio deben acompañarse de una **solicitud de examen** (mal llamada orden médica) que incluya información del paciente (Cuadro 1.1).

Cuadro 1.1

INFORMACION QUE DEBE ACOMPAÑAR LA SOLICITUD PARA EXAMEN BACTERIOLOGICO

- Nombre completo del paciente
- Edad y género
- Fecha en que se obtuvo la muestra
- Tipo de muestra
- Sitio de donde se obtuvo la muestra
- Forma en que se obtuvo la muestra (si es pertinente)
- Examen deseado (anotar lo que se desea investigar, no indicar métodos de trabajo, a menos que se trate de algún procedimiento especial).
- Nombre completo del médico
- Teléfono del médico
- Ubicación del paciente (si está hospitalizado)

Los recipientes en los que se envían las muestras deben identificarse con la siguiente información (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.2

INFORMACIÓN QUE SE DEBE ESCRIBIR EN EL RECIPIENTE DE LA MUESTRA

- Nombre del paciente
- Tipo de muestra
- Fecha en que se obtuvo la muestra
- Numerar recipientes si hay más de uno (A, B, C... o 1, 2, 3...)*

*Si es más de un recipiente, indicar si desea que las muestras sean trabajadas por separado, ya que algunas veces se usan varios recipientes porque estos son muy pequeños y la muestra no cabe en uno solo.

Debe enviarse al laboratorio suficiente cantidad de muestra. Las muestras muy pequeñas comprometen la eficiencia de los exámenes bacteriológicos. Esto es importante, sobre todo si en el mismo material se desea investigar otros agentes microbianos además de bacterias. Si no es posible obtener suficiente material, deberán escogerse los exámenes prioritarios que se necesitan.

En condiciones ideales, las muestras para exámenes bacteriológicos deben obtenerse antes de administrar al paciente agentes antimicrobianos.

En un medio como el nuestro este es un problema muy difícil de controlar, pues hasta los pacientes, por iniciativa propia, comienzan a usar antibióticos, disponibles libremente en las farmacias, antes de pensar en un estudio formal del problema clínico. También es común que los médicos inicien tratamientos empíricos en base a su razonamiento clínico y hasta que no hay una respuesta adecuada deciden un estudio bacteriológico. Por esta razón, el antecedente del uso de antimicrobianos es muy importante para evaluar los resultados de los exámenes.

El laboratorio bacteriológico puede rechazar muestras que no han sido debidamente tomadas o manejadas, esto se hace en beneficio del paciente y forma parte del control de calidad en el laboratorio. Aunque el médico generalmente inicia el proceso de indicar un estudio, no siempre es quien obtiene la muestra o la lleva al laboratorio, pero es quien debe dar las instrucciones al paciente o al personal bajo su responsabilidad. Algunas de las razones para el rechazo de muestras son las siguientes (Cuadro 1.3):

Cuadro 1.3

RAZONES PARA RECHAZAR MUESTRAS PARA ESTUDIO BACTERIOLÓGICO

- Muestras enviadas en recipientes no-estériles (excepto muestras de heces)
- Muestras de tejido enviadas en formalina
- Muestras mal identificadas
- Muestras que se han derramado en tránsito
- Hemocultivos que se han refrigerado antes de llevarlos al laboratorio
- Muestras que han sido transportadas inadecuadamente, Ej.: orina expuesta al calor por más de una hora, muestras de heces refrigeradas (excepto si el propósito es cultivar *Campylobacter*) o muestras en tubos destapados
- Muestras de heces envueltas en papel, secas o duras
- Muestras que no son representativas de lo que se desea estudiar, Ej.: saliva en lugar de esputo.

Nota: el coprocultivo está indicado en casos agudos de diarrea o disentería (heces con moco y sangre), raramente cuando el paciente expulsa heces formadas o duras.

Cuadro 1.4

MUESTRAS CLÍNICAS MÁS FRECUENTEMENTE SOMETIDAS A ESTUDIO BACTERIOLÓGICO

- Sangre
- Médula ósea
- Líquido cefalorraquídeo
- Líquidos pleural, pericárdico, peritoneal y articular
- Orina
- Heces
- Exudados purulentos (pus), úlceras cutáneas, heridas operatorias y fístulas.
- Secreciones respiratorias altas (faringe y amígdalas, nasal, nasofaringe y senos paranasales)
- Secreciones respiratorias bajas (traqueal, bronquial, lavado bronquio-alveolar)
- Exudados de los oídos
- Exudados de los ojos
- Secreción seminal (semen)
- Secreciones, exudados y úlceras genitales
- Tejidos (biopsias)

BIBLIOGRAFIA.

Anand C, Cimolai N. Critical features of specimen collection, transport and processing. Cap. 3 en: N Cimolai, Laboratory diagnosis of bacterial infections. 2001, Marcel Dekker, New York.

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). ClinInfectDis, 2013, 57:485-488. Disponible en:

<http://cid.oxfordjournals.org/content/early/2013/06/24/cid.cit278.fu>

Baron EJ, Thomson RB. Specimen collection, transport and processing: Bacteriology. Cap. 16 en: Versalovic J, et al. Manual Clinical Microbiology, 10 ed. 2011, p. 228-271. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Cratres RH. Improper microbiological specimens – A shocking deficit in Health Care. LabMed, 1979, 10: 234-239.

Detailed collection procedures for clinical microbiology.

PDF disponible en: uams.edu/clinlab/microlinks/specimencollections/procedures

Isenberg HD, Schoenknecht FD, Von Graevenitz A. Collection and processing of specimens. Cumitech 9, august 1979. ASM Press, Washington, D.C.

Isenberg HD. Specimen collection, transport and acceptability. Clinical Microbiology Procedures Handbook, second edition. 2004, Vol.1, section 2.0.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Miller JM. A guide to specimen management in clinical microbiology. 2 ed. 1999. ASM Press, Washington, D.C.

Murray PR, Witebsky FG. The clinician and the microbiology laboratory. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease*. 7th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2009: chap. 227.

York MK. Managing microbiology specimen workups: top 10 list of do's and don'ts. ClinMicrobiolNewsletter, 2006, 28: 81-87.

2

MUESTRAS DE SANGRE PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO (Método tradicional en frascos o botellas con medio líquido)

La sangre representa una muestra normalmente estéril, en condiciones normales algunas bacterias logran entrar a la sangre por vía de la circulación linfática, pero rápidamente son eliminadas por el sistema fagocítico-mononuclear ("sistema retículo-endotelial"). La verdadera presencia de bacterias en la sangre se denomina **bacteriemia** y cuando se acompaña de sintomatología clínica infecciosa, forma parte del síndrome clínico llamado septicemia o sepsis.

El origen más frecuente de infecciones de la sangre es el uso de dispositivos intravasculares (catéteres), le siguen una variedad de infecciones localizadas en otros sitios, como las del tracto genitourinario, tracto respiratorio, colon, peritoneo, piel, vías biliares, abscesos intra abdominales y otros sitios, en ese orden.

La bacteriemia puede ser constante o intermitente, de baja o alta magnitud, ocasionada por una o más especies de bacterias, que pueden ser de crecimiento rápido o lento. Por estas y otras razones, es necesario que en el proceso de investigar bacteriemia se tenga que tomar varios cultivos (hemocultivos).

Cada hemocultivo en adultos representa la obtención de suficiente sangre para sembrar dos frascos con medio de cultivo, uno de ellos se incuba en condición anaeróbica para permitir el crecimiento de bacterias anaeróbicas estrictas y el otro en condición aeróbica para permitir el crecimiento de bacterias aeróbicas. Las bacterias facultativas crecen en ambos. En niños, a menos que esté indicado, se puede obviar el cultivo anaeróbico, sobre todo en niños pequeños, en quienes no es recomendable tomar mucha sangre.

La mayor parte de los laboratorios clínicos utilizan el **método tradicional para efectuar hemocultivos**, que consiste en la siembra de un medio de cultivo líquido (caldo de cultivo) contenido en frascos (botellas). La muestra de sangre, una vez obtenida, se inocula directamente en estos frascos. Existen otros sistemas, incluyendo algunos automatizados, para el cultivo de la sangre, sus ventajas y desventajas en comparación con el método tradicional no serán discutidas en esta ocasión, pero pueden ser consultadas en las referencias anotadas al final.

Se han usado distintos caldos para los cultivos de sangre, casi todos ellos con resultados similares. Los caldos se pueden preparar en el laboratorio o se pueden adquirir comercialmente. Existen diversas presentaciones (Fig, 2.1). El caldo debe contener anticoagulante y agentes anti complemento y anti efecto lisosómico de los leucocitos, para proteger las bacterias que se quieren cultivar. Para esto se ha usado polianetol sulfonato de sodio (SPS) como aditivo, pero su concentración debe ser controlada pues si es mayor de 0.05% puede ser inhibitoria para algunas bacterias. Normalmente se usa 0.025%. Cuando se quiere cultivar bacterias exigentes, se pueden agregar nutrientes especiales al caldo de cultivo.

En 1947 Castañeda describió el uso de un medio bifásico, sólido (agar) y líquido (caldo) en el mismo frasco, para el cultivo de *Brucella*. Por mucho tiempo este sistema fue recomendado como un procedimiento estándar para el cultivo de sangre para aislar este agente. Estudios comparativos más recientes han demostrado que este sistema no es superior al método tradicional usando un medio apropiado y más bien con el uso de ese método se observa una tasa mayor de contaminación. Comercialmente es difícil obtenerlo, pero si se quiere usar se puede preparar en el laboratorio.

El volumen de sangre cultivado es la variable más importante que determina la sensibilidad del hemocultivo para detectar bacteriemia. El volumen de sangre necesario para hacer un hemocultivo dependerá del número de frascos que se van a usar y del contenido de caldo de cultivo en los mismos. En general se recomienda mantener una relación de 1:5

a 1:10 entre el volumen de sangre y el volumen de caldo. Para adultos, los frascos recomendados contienen 90 mL de caldo y cada uno debe ser inoculado con 10 mL de sangre.

Por mucho tiempo se había considerado que en los niños las bacteriemias eran de mayor intensidad, lo cual permitiría usar volúmenes menores de sangre en los cultivos para mantener la misma sensibilidad, comparado con los volúmenes recomendados para adultos. Actualmente se recomienda para los niños, cultivar un volumen suficiente de sangre para lograr la mayor sensibilidad posible. Utilizando frascos con un volumen de medio entre 5 y 50 mL, se pueden inocular volúmenes de sangre entre 1 y 5 mL, dependiendo de la edad y el tamaño (peso) del niño. Esta muestra se coloca en un solo frasco.

La segunda consideración importante es el número de cultivos que se van a sembrar. Cuando no se sospecha endocarditis, un solo hemocultivo por el método tradicional detecta aproximadamente 80% de los episodios, dos hemocultivos 88% y tres hemocultivos 99%. En pacientes con endocarditis el primer hemocultivo es positivo en aproximadamente 90% de los casos. Lo anterior se refiere a muestras tomadas en el mismo período de 24 horas.

Pocos estudios han evaluado en forma sistemática la periodicidad con la cual deben tomarse las muestras, aunque no cabe duda que debido a la fluctuación de algunas formas de bacteriemia, es necesario separar el tiempo entre la toma de las muestras. De forma práctica, las muestras de sangre deben obtenerse un poco antes o inmediatamente después de los picos febriles. Algunos autores han recomendado tiempos de 30 o 60 minutos entre una muestra y la siguiente antes de iniciar antibióticos, pero otros consideran que no hay mayor diferencia si se toman simultáneamente. Es la condición del paciente lo que determina cómo deben separarse las tomas. En situaciones urgentes, donde el uso de antibióticos es de necesidad inmediata, se pueden obtener las muestras simultáneamente de distintos sitios (venas). En situaciones menos urgentes, las tomas se pueden espaciar entre 30 minutos y dos horas. En todo caso, no es necesario obtener más de tres hemocultivos en un período de 24 horas.

La importancia de tomar más de un hemocultivo para evaluar sospecha de bacteriemia no es solamente porque aumenta la sensibilidad del procedimiento, sino porque ayuda a interpretar los resultados positivos para diferenciar si se trata de verdadera bacteriemia o es una contaminación. Cuando se trata de verdadera bacteriemia, hay crecimiento en ambos frascos de cada toma o en los de los otros hemocultivos; cuando se trata de un contaminante, generalmente sólo crece en uno de los frascos



Figura 2.1 Frascos para hemocultivo

Obtención de la muestra.

La muestra de sangre, en el método tradicional, se obtiene por punción venosa usando jeringa. Cada hemocultivo incluye la inoculación de dos frascos. Debe tenerse mucho cuidado para evitar la contaminación con bacterias de la piel, para ello se deben seguir las siguientes instrucciones, Cuadro 2.1.

Cuadro 2.1

INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS PARA HEMOCULTIVO

1. Usar guantes estériles durante el procedimiento.
2. Desinfectar la piel en el sitio de la punción con alcohol etílico o isopropílico 70%, dejando actuar por lo menos durante 30 segundos.
3. Aplicar con una torunda estéril solución de yodo 1 o 2% (un minuto) o Povidone–yodo 10% (dos minutos) en forma concéntrica en la zona de punción. Si existe hipersensibilidad conocida al yodo, se puede substituir por gluconato de clorhexidina 2%.
4. Volver a limpiar la zona de punción con alcohol etílico o isopropílico 70% para retirar el exceso de yodo, dejando actuar un minuto.
5. Desinfectar en la misma forma el tapón de hule de los frascos de cultivo.
6. Esperar que la zona de la piel en que se va a efectuar la punción haya secado antes de introducir la aguja.
7. Hacer la punción venosa y obtener 20 mL de sangre en adultos y entre 1 mL y 5 mL en niños, según su edad y peso.
8. Inocular cada frasco con el volumen de sangre establecido (ver la discusión sobre el volumen de la muestra).
9. (No es necesario cambiar la aguja de la jeringa antes de inocular los frascos, esto se recomendaba anteriormente para evitar contaminación del cultivo, pero se ha demostrado que usando dos agujas la tasa de contaminación no es muy diferente y más bien se trata de proteger al personal de salud evitando manipulaciones innecesarias con el cambio de agujas).
10. Mantener los frascos a **temperatura ambiente** y llevarlos pronto al laboratorio.

BIBLIOGRAFIA.

Baron EJ, Weinstein MP, Dune WM, et al. Blood Cultures IV, Cumitech 1C, 2005, ASM Press. Washington, D. C.

Strand CL, Shulman JA. Bloodstream Infections: Laboratory detection and clinical considerations. Cap. 3, Collection of blood-culture specimens, p. 15-20. 1988. ASCP Press, Chicago.

3

**MUESTRAS DE MÉDULA ÓSEA
PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO**

La médula de los huesos es un tejido que forma parte del sistema hemopoyético y fagocítico-mononuclear (retículo-endotelial). Contiene tejido graso y alberga una diversidad de células que dan origen a las células de la sangre. Tiene irrigación sanguínea por una red que se ramifica interiormente en vasos fenestrados por donde entran las células a la circulación general. La médula ósea puede ser el asiento de infecciones, sobre todo por organismos que se adaptan a una vida intracelular, notoriamente las bacterias que causan la fiebre tifoidea, la brucelosis y la tuberculosis. La médula ósea también puede estar comprometida por hongos (Ej.: *Histoplasma*) y protozoos (Ej.: *Leishmania*).

El procedimiento para obtener muestras de médula ósea únicamente debe ser efectuado por personal médico adiestrado, generalmente especialistas en Hematología.

Las muestras de médula ósea para investigar infecciones usualmente se obtienen simultáneamente con la porción que se usa para estudios hematológicos. El médico que realiza el procedimiento debe saber anticipadamente qué volumen de médula va a ser necesario para los diferentes estudios y tener a mano los recipientes adecuados para cada examen, así como las láminas portaobjetos para los extendidos (frotos).

Obtención de la muestra:

La médula ósea para cultivo bacteriológico debe sembrarse directamente en los frascos apropiados inmediatamente que se obtiene la muestra. Se usa el mismo procedimiento que para un hemocultivo.

La diferencia es que únicamente es necesario inocular un frasco y solo se siembran 1 a 2 mL de médula. (Nota: Cuando se toman más de 2 mL de médula, se diluye mucho el tejido medular con sangre periférica, pues al hacer el aspirado se rompen vasos causando una hemorragia intramedular).

Al mismo tiempo que se obtiene el material medular, se preparan dos frotos en láminas porta objetos para las coloraciones directas. Si además se quiere cultivar hongos, *M. tuberculosis* o *Leishmania*, se usan unas gotas del aspirado en cada uno de los medios apropiados y se preparan frotos adicionales. El frasco de cultivo se mantiene a temperatura ambiente y se lleva prontamente al laboratorio.

BIBLIOGRAFIA.

Bone Marrow Culture. University of Connecticut Health Center.
Disponible en: Pathology.uchc.edu/pdf/uid1784.pdf

Riley RS., et al. An illustrated guide to performing the bone marrow aspiration and biopsy. Disponible en:
www.pathology.vcu.edu/education/PathLab/pages/hematopath/bm.html

4

MUESTRAS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

El sistema nervioso central (SNC) comprende diversas estructuras anatómicas Fig. 4.1, incluyendo: el cerebro, el cerebelo, el puente, el tallo cerebral, la médula espinal y las membranas que los cubren (las meninges: duramadre, aracnoides y pía madre), Fig. 4.2 El diagnóstico de las infecciones del sistema nervioso central es de importancia crítica para poder hacer un tratamiento oportuno.

En el interior del cerebro se encuentran los ventrículos cerebrales, dentro de los cuales hay un plexo vascular llamado plexo coroideo, donde es producido el líquido cefalorraquídeo (LCR), que de los ventrículos laterales pasa al tercer ventrículo y luego a través del acueducto de Sylvius emerge del tallo cerebral a la cisterna magna y circula en el espacio subaracnoideo, donde es reabsorbido hacia el sistema venoso. La obstrucción a la circulación del LCR causa hipertensión intracraneal; esta obstrucción puede deberse entre otras cosas a infecciones.

La infección del parénquima cerebral se denomina encefalitis, a menudo se asocia con infección del espacio subaracnoideo (meningitis), designándose en este caso meningoencefalitis. La formación de abscesos cerebrales es otra forma de infección del parénquima.

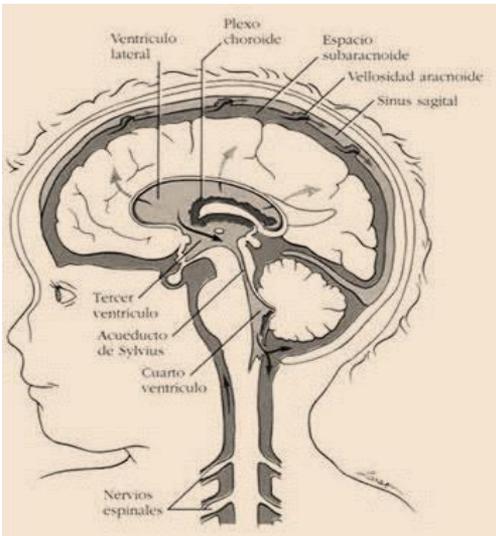


Figura 4.1 Vías de circulación del líquido cefalorraquídeo

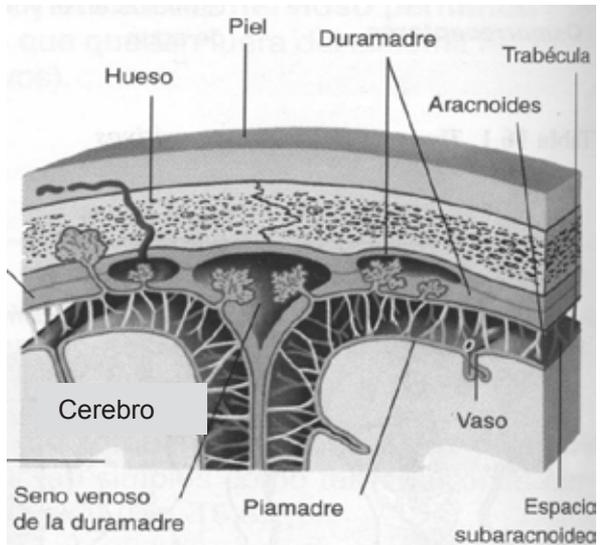


Figura 4.2. Corte sagital del cráneo mostrando las meninges

Hay dos formas principales de meningitis:

- 1) La forma “**aséptica**”, llamada así en forma errónea (pero el término se sigue usando por costumbre), porque los cultivos para bacterias comunes resultan negativos, es producida por diversos agentes patógenos, generalmente virus y a veces por *M. tuberculosis*, hongos y espiroquetas como *Treponema*, *Leptospira* y *Borrelia*. Los cultivos rutinarios para bacterias no detectan estos organismos.
- 2) La forma **purulenta**, causada generalmente por bacterias piogénicas como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Nocardia*, otras bacterias y ocasionalmente por protozoos.

La infección de la sustancia de la médula espinal se denomina mielitis. Menos frecuentemente se encuentran infecciones de las partes anatómicas adyacentes del SNC como absceso epidural, osteomielitis del cráneo o infecciones de los nervios periféricos (borreliosis, tuberculosis y lepra).

La gran mayoría de las infecciones del SNC son de origen hematógeno, los organismos que llegan por vía sanguínea deben vencer la “barrera hemato-encefálica”; que es un sistema de protección vascular del SNC. Otras vías de acceso son trauma, cirugía previa del cráneo, punciones del espacio subaracnoideo o raramente por vía neural retrógrada (rabia, herpes zoster, varicela y algunos arbovirus).

Debido a la frecuencia con que se encuentra comprometido el espacio subaracnoideo en infecciones del SNC, el estudio del LCR es de suma importancia en el manejo de estos pacientes. En otros casos, sobre todo cuando se trata de abscesos cerebrales, es necesario obtener muestras directamente de las lesiones. En estos pacientes, la aspiración del absceso y el manejo del material se hace siguiendo las recomendaciones de muestras de exudados purulentos (ver adelante).

El LCR normal es de aspecto cristalino, tiene menos de 6 células/ μL , menos de 50 mg/dL de proteínas y entre 50 y 80 mg/dL de glucosa. En pacientes con meningitis “aséptica” o no-purulenta, el líquido suele ser claro o ligeramente turbio (opalescente), se encuentra un aumento entre 50 y 500 células/ μL (usualmente mononucleares de aspecto linfoide), ligero incremento entre 55 y 80 mg/dL de proteínas y glucosa generalmente normal o ligeramente disminuida.

Los pacientes con meningitis purulenta muestran un LCR de aspecto turbio, con aumento del número de células (predominantemente leucocitos polimorfonucleares neutrófilos) en un rango entre 3,000 y 10,000/ μL , aumento de proteínas mayor de 100 mg/dL y disminución de la glucosa a valores menores de 10 mg/dL.

Hay situaciones intermedias entre estos extremos, por ejemplo: en el caso de meningitis tuberculosa, el aumento de células es moderado en el rango de 1,000 a 2,000/ μL y mixto, con predominio de leucocitos mononucleares, pero con presencia substancial de polimorfonucleares, aumento importante de proteínas de más de 100 mg/dL y disminución de la concentración de glucosa (entre 15 y 30 mg/dL).

Obtención de la muestra:

Exceptuando circunstancias muy poco frecuentes, el LCR se obtiene por punción lumbar (PL) (Fig. 4.3). La PL es un procedimiento invasivo que debe ser efectuado en forma aséptica estricta, por un médico con adiestramiento en esta técnica.



Figura 4.3: Punción lumbar

Se recomienda obtener la muestra en tres tubos estériles, el primero para examen histoquímico, el segundo para estudio bacteriológico (coloración de Gram y cultivo) y el tercero para estudios inmunológicos que sean requeridos. El volumen mínimo en cada tubo debe ser 2 mL, nunca menos de 1 mL.

Las muestras de LCR deber ser procesadas lo más pronto posible después de ser obtenidas. No deben refrigerarse. Si solamente se obtiene un tubo, el mismo debe ser enviado al laboratorio de Bacteriología antes de ser manipulado en otras secciones.

La sensibilidad de los métodos de laboratorio para detectar bacterias en el LCR depende en gran medida del volumen de la muestra. Este tema ha sido motivo de mucha discusión entre los médicos y los expertos en el laboratorio, pero no hay forma de contrarrestar el concepto de que entre menos muestra se recibe en el laboratorio, menos probabilidades hay de detectar la causa del problema.

BIBLIOGRAFIA.

Gray LD, Fedarko DP. Laboratory Diagnosis of Bacterial Meningitis. Clin.Microbiol.Rev. 1992, 5:130-145.

Ray CG, Smith JA, Wasilauskas B, Zabransky R.1993. Laboratory Diagnosis of Central Nervous System Infections. Cumitech 14A, ASM Press. Washington, D.C.

Strauss SE, Thorpe KE, Holroyd-Leduc J. How do I perform a lumbar puncture and analyze the results to diagnose bacterial meningitis. *JAMA* 2006, 296:2012-2022. Disponible en:
<http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt05-collect-transport-specimens.html>

5

MUESTRAS DE LÍQUIDOS PERICÁRDICO, PLEURAL, PERITONEAL Y ARTICULAR PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

Aunque las infecciones de los espacios pericárdico, pleural, peritoneal y articular tienen diferentes causas, el procedimiento de obtención de las muestras de estos líquidos se lleva a cabo en la mayor parte de los casos por aspiración de las cavidades correspondientes con una jeringa. Estos son procedimientos invasivos y deben ser efectuados por un médico adiestrado en las técnicas respectivas. Nunca se deben enviar estas muestras en hisopos.

Obtención de las muestras:

Lo ideal es obtener tres muestras separadas en tubos estériles con tapadera de cierre seguro (Fig. 5.1), uno para el estudio cito-químico, otro para estudio bacteriológico y el tercero para exámenes adicionales que sean requeridos. En general se trata de derrames que permiten aspirar suficiente cantidad para enviar al laboratorio, por ejemplo 50 mL; sin embargo, si el derrame es escaso, se envía el mayor volumen que se pueda aspirar.

Mucha vez estos derrames son exudados que contienen fibrinógeno y tienden a coagular, por ello es conveniente agregar un anticoagulante estéril a la muestra, que no sea inhibitorio para el crecimiento de bacterias, por ejemplo, heparina o citrato sódico 3.8%.

Algunos autores recomiendan la inoculación directa de estos líquidos (2 a 10 mL) en frascos con caldo de cultivo como los usados para obtener hemocultivos, en esta forma se logra una mejor recuperación de bacterias.

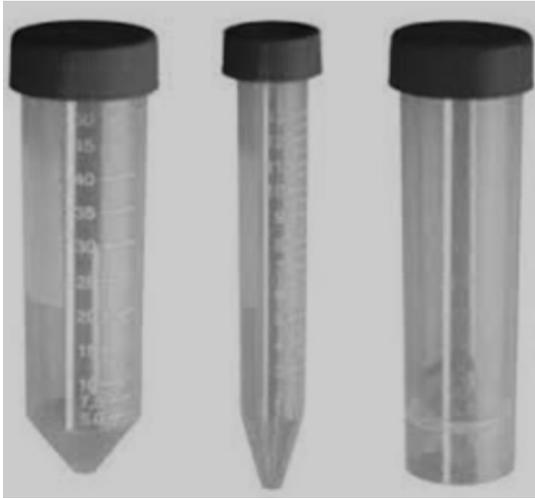


Figura 5.1 Ejemplos de tubos para obtención de líquidos

Siempre debe dejarse aparte una porción de la muestra para la preparación de frotis para las coloraciones directas. Es preferible que estas muestras sean procesadas con prontitud una vez que son obtenidas, pero la exigencia es menor que con las muestras de líquido cefalorraquídeo y si se mantienen refrigeradas, pueden ser sembradas hasta 24 horas después sin mayor compromiso para la recuperación de los organismos patógenos comunes; una excepción es el caso de sospecha de artritis gonocócica, que por lo lábil que es *Neisseria gonorrhoeae*, el aspirado articular debe ser sembrado tan pronto como sea posible en un medio apropiado.

BIBLIOGRAFIA.

Serous body fluids, cap. 10 en: LA Mundt, K Shanahan. Graff's textbook of urinalysis and body fluids. 2 ed. 2011, Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia.

6

MUESTRAS DE ORINA PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

Las infecciones de la vía urinaria son comunes en la población general, afectan a personas de todas las edades, tanto aquellas que tienen una salud normal como a pacientes debilitados, son más frecuentes en el género femenino. Los cuadros clínicos van desde formas asintomáticas (bacteriuria asintomática), uretritis y cistitis, hasta pielonefritis e infecciones complicadas.

Los cultivos de la orina para bacterias posiblemente son los procedimientos más comunes en los laboratorios de Bacteriología Clínica. A través de los años no ha habido cambio significativo en la frecuencia de los agentes que causan infecciones urinarias, pero si ha cambiado el comportamiento de estas especies ante los agentes antimicrobianos. El cultivo es necesario para poder aislar la bacteria y efectuar los estudios de sensibilidad a los antibióticos.

El examen general de la orina indica una posible infección urinaria cuando se observan leucocitos en cantidad mayor que lo normal (piuria), eritrocitos (hematuria), presencia de nitritos y esterasa leucocitaria, así como un aumento evidente del número de bacterias en el examen del sedimento urinario. Todo lo anterior asumiendo que la muestra de orina ha sido obtenida debidamente. Si no se toman las precauciones debidas para obtener la muestra, la contaminación con secreciones de origen genital altera los resultados, esto es más frecuente en mujeres y en personas en los extremos de edad (niños muy pequeños y personas mayores de 60 años). La sensibilidad del examen general de orina para predecir infección urinaria varía por diversas razones y la correlación con la presencia de bacteriuria significativa demostrada por cultivo no es absoluta.

El marcador de laboratorio definitivo para establecer el diagnóstico de infección bacteriana de la vía urinaria es el cultivo de la orina. Desde

mediados del s. XX se llevaron a cabo estudios que demostraron que una cifra de 10^5 unidades formadoras de colonia (UFC)/mL de orina es indicativa de infección urinaria. A dicha cifra se le considera una “bacteriuria significativa”, pero estudios más recientes han demostrado que si solo se informaran los cultivos con más de 10^5 UFC/mL se estaría dejando de diagnosticar un buen número de infecciones que se asocian con cuentas menores.

Actualmente se recomienda que los laboratorios deben informar crecimientos puros mayores de 10^2 UFC/mL y sobre todo mayores de 10^4 UFC/mL. Algunos estudios demuestran que en mujeres sintomáticas, algunos cultivos con cuentas bajas iniciales se vuelven negativos en 48 horas sin necesidad de tratamiento, pero un número mayor de personas progresa a cuentas más altas en el mismo tiempo. Corresponde al médico hacer la correlación clínica de estos resultados y decidir la forma de tratamiento, pues en general las personas con bacteriuria asintomática no ameritan el uso de antimicrobianos. En varones, cuentas mayores de 10^3 /mL son predictivas de infección urinaria en un alto porcentaje de pacientes.

Las personas con infección urinaria baja (uretritis) tienden a tener cuentas bajas comparadas con las que padecen cistitis o pielonefritis, que casi siempre tienen cuentas mayores de 10^4 UFC/mL.

Hay ciertas variables que afectan los resultados de un urocultivo, como son el estado de hidratación de la persona, el exceso de ingesta o infusión de líquidos, la posibilidad de contaminación externa, el uso previo de antimicrobianos, la relación temporal para obtener la muestra, la prontitud con que se procesa la muestra después de haber sido obtenida, etc. Por eso, a veces es necesario hacer más de un cultivo para definir la situación real del paciente, sobre todo cuando se trata de niños.

Cuando los pacientes que han tenido infección urinaria son tratados con antimicrobianos, se recomienda efectuar cultivos de control entre 1 y 2 semanas después de finalizado el tratamiento, aun cuando el paciente ya no presente síntomas.

Por razones anatómicas, la posibilidad de contaminación de la orina es alta. Por eso, deben tomarse precauciones extremas para obtener muestras de calidad. **En primera instancia es el médico que solicita el examen el responsable de indicar a su paciente, o a los responsables del paciente, las precauciones que se deben tomar para obtener la muestra de orina.**

Hay diversas formas de obtener orina, pero en la práctica es más común obtener dichas muestras durante la micción (al momento de orinar) en un frasco estéril (Fig. 6.1). Menos frecuentemente se hace mediante sondas urinarias bolsas colectoras o punción suprapúbica de la vejiga.



Figura 6.1: frasco estéril para muestras de orina

En los niños pequeños es difícil obtener la orina en la forma antes descrita y es necesario utilizar un colector de orina. Estos son bolsitas plásticas especiales estériles (Fig. 6.2).



Figura 6.2: colector de orina para niños pequeños.

El uso de una sonda urinaria para obtener orina, utilizada con ese único propósito (cateterización de entrada y salida), se utiliza cuando el cultivo de orina obtenida por micción no da resultados confiables o cuando dicho examen muestra contaminación en forma repetida, así como en personas incapacitadas o que tienen problemas neurológicos. Para evitar los riesgos de contaminación se deben tomar precauciones extremas de limpieza y antisepsia de la región genital externa antes de introducir la sonda.

En los pacientes que ya tienen una sonda urinaria, las muestras se pueden obtener usando una técnica aséptica cuidadosa a través del puerto de colección, desinfectando el diafragma y aspirando la orina con una jeringa. La sonda no debe desconectarse, es decir, debe mantenerse un sistema cerrado.

Las muestras de orina para cultivo **NUNCA** deben obtenerse de la bolsa de colección de orina en personas que tienen sondas permanentes, pues esa orina siempre está contaminada. Tampoco es recomendable hacer punción de la sonda misma, ya que su contenido no es

representativo de orina vesical. Los organismos que colonizan el catéter están asociados con la formación de “biofilm” y raramente invaden la vejiga. Si se presenta la necesidad de hacer un cultivo en estos pacientes, es mejor retirar el catéter permanente e introducir una sonda nueva después de un cuidadoso procedimiento de antisepsia local.

El cultivo de puntas de sondas urinarias no está indicado bajo ninguna circunstancia para investigación de infección urinaria, la mayor parte del tiempo sólo indican la presencia de contaminantes.

Obtención de la muestra.

Cuadro 6.1

INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE ORINA EN ADULTOS Y NIÑOS MAYORES

1. Preferiblemente obtenga la primera orina de la mañana. Si no es posible, espere al menos dos horas después de la última vez que orinó, para obtener la muestra. (**No abra el frasco estéril** para colectar la muestra hasta completar el paso 2).
2. Repita tres veces un lavado cuidadoso de la región genital con agua y jabón. Seque la zona lavada con una toalla limpia y seca.
3. Abra el frasco estéril, téngalo listo a la mano.
4. Comience a orinar en el servicio sanitario y a media micción, introduzca el frasco en el chorro de orina y obtenga una porción de la misma. Retire el frasco y termine de orinar en el servicio.
5. Cierre el frasco, rotule con el nombre del paciente y la hora en que se obtuvo la muestra.
6. Lleve al laboratorio antes de que pase una hora o mantenga la muestra refrigerada hasta el momento de llevarla al laboratorio.

Cuadro 6.2

INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE ORINA EN NIÑOS PEQUEÑOS

1. Repita tres veces un lavado cuidadoso de la región genital con agua y jabón.
2. Seque la zona lavada con una toalla limpia y seca.
3. Coloque el colector según las instrucciones que lo acompañan y déjelo puesto.
4. Cuando el niño haya orinado, retire el colector, adhiera las partes laterales para cerrarlo y llévelo prontamente al laboratorio. **La orina no se debe pasar a otro recipiente.** Si hay atraso en llevar la orina, mantenga la muestra refrigerada.

Aunque la aspiración suprapúbica (ASP) de orina vesical (Fig. 6.3) se considera el método ideal para obtener la orina con el mínimo riesgo de contaminación, sobre todo en niños pequeños (lactantes) cuando tienen un cuadro de sepsis, en la práctica no se lleva a cabo en adultos o niños más grandes. La ASP es un procedimiento hospitalario y siendo una maniobra invasiva sólo debe ser efectuada por un médico adiestrado.



Figura 6.3: Punción suprapúbica

BIBLIOGRAFIA.

Burd EM, Kehl KS. A critical appraisal of the role of the clinical microbiology laboratory in the diagnosis of urinary tract infections. *JClinMicrobiol.* 2011, 49: S34-S38.

Higgins D. Obtaining a catheter specimen of urine. Disponible en: <http://www.nursingtime.net/nursing-practice/clinical-zonez/continence/obtaining-a-c...>

McCarter YS, Bard EM, Hall CS, Zervos M. 2009. *Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections.* Cumitech 2C, ASM Press. Washington, D.C.

7

MUESTRAS DE HECES PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

En Bacteriología Clínica, el estudio de las infecciones gastrointestinales representa uno de los panoramas más complejos, lo cual no es apreciado en su magnitud por la forma en que generalmente se hacen las solicitudes y se transportan las muestras para cultivo de las heces.

La presentación clínica más común de infección intestinal es **diarrea**, que aunque difícil de definir en términos cuantitativos, usualmente se expresa como un aumento del número de evacuaciones o cuando las heces se vuelven más suaves o líquidas. Hay cuadros clínicos donde las evacuaciones son enteramente líquidas. En muchos casos la diarrea de origen infeccioso se acompaña de dolor abdominal y en ciertos casos de fiebre y vómito. Cuando la diarrea se acompaña de dolor en forma de retortijones y hay tenesmo (dolor al defecar) y las heces presentan sangre y moco, se habla de disentería.

Las posibilidades etiológicas de la diarrea infecciosa incluyen virus, toxinas de origen bacteriano, bacterias y protozoos. Las muestras deben ser examinadas con diversos métodos ya que no existe un procedimiento universal que incluya todas las causas posibles, de allí que **la solicitud de “coprocultivo” sin especificar los agentes que se quiere investigar, es inaceptable**. El médico debe orientar al laboratorio en la búsqueda de los agentes más probables de acuerdo al análisis clínico y epidemiológico del caso, ver (Cuadro 7.1).

Por otro lado, los laboratorios generalmente no pueden efectuar todos los posibles exámenes para investigar la etiología de la diarrea infecciosa, así que el médico debe estar familiarizado o llamar anticipadamente al laboratorio para informarse de lo que se puede hacer.

El laboratorio puede rechazar muestras secas que hayan sido transportadas en recipientes de cartón, papel o pañales, ya que procesar este tipo de muestras no beneficia al paciente. En igual forma las muestras insuficientes no deben ser procesadas. Tampoco es recomendado someter a cultivo heces formadas o duras ya que es obvio que no existe diarrea. Salvo raras excepciones, no se recomienda el uso de hisopos para obtener material rectal. Únicamente si hay infección activa en lactantes o en niños pequeños y no se puede obtener una muestra de heces evacuada naturalmente. Una vez que se obtiene la muestra debe ser llevada prontamente al laboratorio manteniéndola a temperatura ambiente, idealmente **la muestra debe ser sembrada antes de que pase una hora desde su obtención**, ya que el atraso en procesar la muestra compromete los resultados. Una alternativa si se anticipa un atraso, es usar un medio de transporte, como medio de Cary Blair, que protege la mayor parte de los patógenos intestinales.

Obtención de la muestra:

Sólo se recomienda cultivar muestras de diarrea o disentería, preferentemente lo más pronto después del inicio del cuadro clínico. No se recomienda cultivar heces formadas o duras.



Figura 7.1: recipiente para Muestras de heces

Las muestras de heces deben obtenerse al momento de defecar en un recipiente seco de material no absorbente, preferentemente de plástico, que tenga una boca ancha y tapadera segura (Fig. 7,1). La muestra debe ser representativa y de suficiente volumen (30 a 50 mL) para poder seleccionar las porciones más adecuadas (Ej.: mucosidad) para hacer el examen.

Cuadro 7.1

**AGENTES BACTERIANOS COMUNES
EN LA DIARREA DE ORIGEN INFECCIOSO**

Agentes etiológicos más frecuentes	Fuente o condición predisponente	Período de incubación
<i>Aeromonas</i>	Agua	?
<i>Bacillus cereus</i> (toxina)	Carnes, vegetales, arroz frito	1-6 horas: vómito 6-24 horas: diarrea
<i>Campylobacter</i>	Agua, leche, aves, cerdo y contacto con animales	3-11 días
<i>Clostridium difficile</i> (toxina)	Tratamiento con antibióticos	4-9 días
<i>Clostridium perfringens</i> (toxina)	Carne, productos de carne, salsas	8-6 horas
<i>Escherichia coli</i> (enterotoxigénica)	Agua, comidas	4-24 horas
<i>Escherichia coli</i> (enteroinvasiva)	Comidas	8-24 horas
<i>Escherichia coli</i> (verocitotóxica)	Leche, carne	3-5 días
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Agua, mariscos de concha	1-2 días
<i>Salmonella entérica</i>	Alimentos, huevos, leche en polvo, productos de animales.	8-72 horas
<i>Shigella dysenteriae</i>	Agua	3-5 días
<i>Shigella spp.</i> (no-dysenteriae)	Agua, alimentos	8-72 horas
<i>Staphylococcus aureus</i> (toxina)	Salsas, carne, productos lácteos, arroz.	1-6 horas
<i>Vibrio cholerae</i>	Agua, mariscos	1-5 días
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Mariscos	14 -15 horas

BIBLIOGRAFIA.

Gilligan PH, Janda JM, Karmali MA, Miller JM. 1992. Laboratory Diagnosis of Bacterial Diarrhea. Cumitech 12A. ASM Press. Washington, D.C.

Stool culture. Lab Tests Online. Disponible en:
<http://labtestsonline.org/understanding/analytes/stool-culture/tab/test>

8

MUESTRAS DE EXUDADOS (PUS), ÚLCERAS CUTÁNEAS, HERIDAS OPERATORIAS Y FÍSTULAS, PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

Un exudado es un material que se forma en un tejido o cavidad corporal, contiene líquido y células como consecuencia de un proceso inflamatorio, se caracteriza por tener una concentración de proteínas mayor de 3 g/dL, pH alcalino o ligeramente ácido y presencia de leucocitos, usualmente con predominio de polimorfonucleares neutrófilos. Pueden ser de evolución aguda o crónica. Generalmente la infección bacteriana da lugar a la formación de exudados que pueden ser serosos, purulentos (pus), hemorrágicos, fibrinosos o pútridos.

Tanto el trauma físico o la cirugía, como algunas enfermedades, pueden ocasionar la formación de lesiones abiertas en forma de heridas, laceraciones, úlceras, quemaduras, mordeduras de animales o humanos, picaduras, fracturas expuestas, abrasiones, contusiones, etc. que pueden ser infectadas por bacterias, ya sea procedentes de la microbiota normal de la persona, organismos del ambiente u otras fuentes contaminadas, Ej.: secreciones de animales (mordeduras). Estas lesiones se acompañan de la formación de exudados.

En los cultivos de rutina no afecta exponer la muestra del exudado al aire ambiental pero cuando se sospecha una infección por bacterias anaeróbicas estrictas, se deben tomar precauciones extremas para no exponer al aire el material obtenido. No se deben tomar muestras para estudio de anaerobios de sitios o materiales que normalmente contienen estos organismos, como las mucosas de la faringe y nasofaringe, esputo expectorado, secreciones obtenidas por broncoscopia, contenido gástrico e intestinal, heces, orina obtenida por micción o cateterismo y secreciones genitales.

La mayoría de los laboratorios no tienen la capacidad de efectuar cultivos anaeróbicos, que implica no solamente hacer crecer estos organismos en un medio adecuado, sino identificarlos y hacer las

pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. Por esta razón el médico debe estar bien seguro que se pueden hacer dichos cultivos antes de hacer la solicitud correspondiente; sin embargo, al menos los exámenes directos (coloración de Gram) pueden ser orientadores.

Son muy variadas las lesiones causadas por bacterias anaeróbicas, entre las más importantes se pueden mencionar: absceso cerebral, empiema subdural, absceso epidural, trombosis séptica del seno venoso de la duramadre, infecciones odontogénicas, sinusitis, infecciones relacionadas a trauma y cirugía, bacteriemia anaeróbica, abscesos pulmonares, infecciones intraperitoneales, absceso hepático, actinomicosis, osteomielitis anaeróbica, mordeduras humanas, fasciitis y miositis anaeróbica, gangrena por *Clostridium*, tétanos, etc.

Obtención de la muestra:

Cuando se trata de un exudado que forma una colección fluida, en forma de absceso o derrame cerrado, la mejor forma de obtener la muestra es mediante aspiración con jeringa usando una aguja gruesa (18G). El sitio de la punción debe ser desinfectado previamente. Una vez obtenido, el material aspirado se transfiere a un frasco o tubo estéril con tapadera hermética. Si no se cuenta con un frasco o tubo estéril para transferir el material al momento de obtener la muestra, se puede enviar en la misma jeringa, teniendo el cuidado de cubrir la aguja con el protector y dejarla bien sujeta a la jeringa. **Nunca se debe enviar una jeringa con la aguja expuesta.** Algunos autores recomiendan no enviar jeringas al laboratorio para evitar accidentes.

Cuando no es posible aspirar la muestra, sobre todo cuando se trata de lesiones expuestas, mucosas, úlceras o material escaso, se puede utilizar un hisopo estéril. Una vez obtenida la muestra, el hisopo se introduce en un tubo estéril o en un tubo con medio de transporte (algunos son producidos comercialmente). Generalmente los hisopos fabricados comercialmente vienen en un tubo con un líquido o gel de transporte que protege la muestra (Fig. 8.1). Los hisopos no son la mejor forma de obtener muestras pues absorben parte del material, pero a

veces no hay alternativa. Estas muestras se dejan a temperatura ambiente y se llevan prontamente al laboratorio.



Figura 8.1: tubo para obtención de exudados

Los exudados de heridas abiertas y úlceras deben tomarse del sitio de la lesión sin tocar la piel adyacente. Las úlceras crónicas (más de seis semanas de evolución) de la piel de las extremidades inferiores, como las de origen diabético o por insuficiencia venosa, representan un problema para su evaluación bacteriológica, pues estas lesiones frecuentemente están colonizadas superficialmente por diferentes organismos, lo cual hace difícil interpretar el resultado de los cultivos y definir si se trata de colonizantes u organismos invasivos. Para resolver el dilema se hace necesario hacer una limpieza superficial de la lesión con agua destilada o solución salina estériles para eliminar al máximo el exudado y después se obtiene una **biopsia** de la base o se hace una punción con aguja para cultivar el tejido subyacente. Los cultivos de superficies quemadas de la piel se manejan con criterios similares.

El cultivo de exudados expulsados a través de una fístula requiere de una cuidadosa antisepsia externa, luego se presiona el tejido adyacente para lograr la expulsión del exudado y se toma la muestra con un hisopo estéril o directamente con un asa de cultivo si se tienen a la mano los medios para sembrar la muestra y hacer un extendido para coloración

de Gram. La ventaja de hacer las siembras directamente es que si el material es escaso, como suele suceder, no se pierde en el hisopo. Si se sospecha *Nocardia* o *Actinomyces*, se deben usar los medios apropiados para el cultivo de estos organismos.

BIBLIOGRAFIA.

Bowler PG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *ClinMicrobiolRev*, 2001, 14: 244-69.

Dow G. bacterial swabs and the chronic wound: when, how and what do they mean. Disponible en: <http://www.o-wm.com/article/1696>

Ford A. Up-front advice on font-end problems. *CAP Today*, Julio 2009, p. 12-14.

Gardner SE, Frantz R, Hillis SL. Diagnostic validity of semi quantitative swab cultures from wounds. 2009. Disponible en: http://www.medscape.com/viewarticle/555252_print

Percival SL, Dowd SE. The microbiology of wounds. Cap. 6 en: S Percival and K Cutting, *Microbiology of Wounds*, 2010. CRC Press, Boca Raton.

Skin and wound cultures. disponible en: <http://www.webmd.com/a-to-z-guides/skin-and-wound-cultures?page=2>

Wound culture. Disponible en: <http://www.surgeryencyclopedia.com/St-Wr/Wound-Culture.html> 2009.

9

MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

El tracto respiratorio superior (Fig. 9.1) incluye la cavidad nasal, la faringe, la epiglotis y los tejidos vecinos de la laringe. El epitelio o membrana mucosa que recubre el tracto respiratorio superior se continúa con el de los senos para nasales, la trompa de Eustaquio y el oído medio en la parte superior y con el de la laringe en la parte inferior.

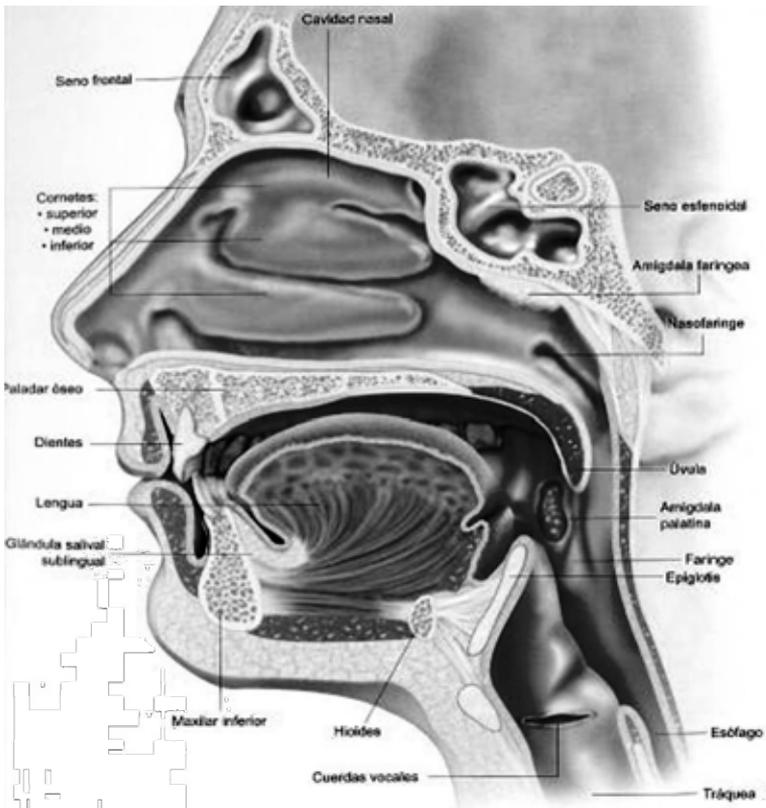


Figura 9.1: Anatomía de la vía respiratoria superior

Cada una de las distintas regiones de la vía respiratoria superior está colonizada por una amplia variedad de bacterias que constituyen la microbiota local normal. Entre estos habitantes microbianos normales, se encuentran algunos que bajo ciertas circunstancias se pueden comportar como agentes patógenos si logran superar los mecanismos de defensa normal, invadir la mucosa y desencadenar un proceso inflamatorio y hasta penetrar a las vías linfáticas y hemáticas, o por continuidad para llegar a otros sitios distantes. Entre estos patógenos potenciales están: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*.

Hay una variedad de cuadros clínicos asociados con infecciones por estos organismos, entre los más comunes o importantes: faringitis aguda, amigdalitis aguda, epiglottitis, laringitis, laringotraqueobronquitis, absceso peri tonsilar y sinusitis aguda y crónica. Hay otros cuadros clínicos ocasionados por bacterias que no son parte de la microbiota normal como *Bordetella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*.

Obtención de muestras:

Cavidad Nasal y Nasofaringe.

Ordinariamente no está indicada la obtención de muestras de la cavidad nasal y nasofaringe para estudios bacteriológicos, salvo algunas excepciones, por ejemplo: cuando existe alguna lesión localizada en el epitelio nasal, cuando se desea investigar si la persona es portadora de un agente particular, Ej.: *Staphylococcus aureus* o *Neisseria meningitidis*, cuando se sospecha tosferina (causada por *Bordetella pertussis*) o difteria. Los cultivos para *Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae* no se llevan a cabo en muchos laboratorios y estas infecciones usualmente se investigan mediante la detección de anticuerpos en el suero del paciente.

Nunca deben hacerse cultivos de nasofaringe para determinar si las bacterias allí presentes son las mismas que causan otitis media o

sinusitis. Para investigar estas infecciones deben seguirse las recomendaciones específicas (ver adelante). Recuerde que es normal que se encuentren en la nasofaringe diversos patógenos potenciales como parte de su microbiota normal.

Para obtener las muestras para cultivo de *Bordetella* se utiliza un hisopo delgado que se introduce por el piso de la cavidad nasal hasta la nasofaringe, se rota en su interior y se retira en la misma forma que se introdujo. No deben usarse hisopos de fibra de algodón porque los ácidos grasos del algodón dañan la bacteria e impiden su crecimiento, se prefieren los hisopos de alginato de calcio. La muestra debe sembrarse inmediatamente o colocarse en un medio de transporte especial (consulte con el laboratorio ya que hay varias alternativas). Aun cuando se coloque en un medio de transporte, la muestra debe sembrarse con prontitud.

Aunque el hisopo es una forma práctica y fácil de obtener estas muestras, las mejores muestras de secreción nasofaríngea para cultivo de *Bordetella* se obtienen por aspiración de la secreción o por lavado y aspiración con una sonda delgada. El aspirado debe tratarse en la misma forma que el hisopado.

Faringe y amígdalas.

La faringe comprende la parte superior ubicada por arriba del paladar blando (nasofaringe), la parte media que incluye las amígdalas (orofaringe) y la parte inferior que es la región por debajo de la epiglotis, que termina en la laringe y en la apertura superior del esófago (hipofaringe).

Las infecciones de la faringe y estructuras adyacentes tienen presentaciones clínicas variadas. El cuadro de faringitis o faringoamigdalitis aguda (Fig. 9.2) es uno de los más frecuentes y se caracteriza por dolor en la garganta, fiebre, eritema y edema de la mucosa faríngea, a veces con formación de vesículas y pequeñas ulceraciones y presencia de exudado purulento. De una cuarta parte a la mitad de los casos son ocasionados por virus, hasta una tercera parte de las infecciones en niños y cerca de un 10% en adultos pueden ser

causadas por *Streptococcus pyogenes*. Hay otras causas menos frecuentes o raras y a veces no se puede determinar la etiología de estas infecciones. En todas las formas de faringitis aguda los síntomas y signos se traslapan y a menos que se hagan los estudios de laboratorio no es posible determinar su etiología, por eso existe bastante debate acerca de la conducta que debe seguir el médico en estos pacientes cuando no hay una causa demostrada. La evidencia acumulada da preferencia a la obtención de un cultivo antes de iniciar tratamiento con antibióticos, al menos para excluir *S. pyogenes* que es la razón más común para usar antibióticos.



Figura 9.2: faringitis aguda exudativa

En condiciones rutinarias el cultivo de la faringe para bacterias está orientado únicamente a la búsqueda de *Streptococcus pyogenes* (Estreptococo β hemolítico de grupo A). Esta práctica ha sido recomendada en los últimos 50 años. Bajo sospecha especial de acuerdo con la historia clínica y epidemiológica del caso, el médico puede solicitar cultivos separados para otras bacterias como *Neisseria gonorrhoeae* o *Corynebacterium diphtheriae*.

La confiabilidad del cultivo de la faringe para la detección de *S. pyogenes* está sujeta a diversas variables técnicas, entre las cuales posiblemente la más importante es la forma en que se toma la muestra.

El hisopo se debe frotar firmemente sobre la superficie de la faringe y amígdalas y evitar tocar la úvula y la lengua. En esta forma un sólo cultivo tiene una sensibilidad de 90 a 97% para detectar *Estreptococo* de grupo A. Dos cultivos aumentan un poco la sensibilidad pero no se considera necesario un segundo cultivo en la práctica general.

La muestra se puede obtener a cualquier hora del día y no es importante si el paciente ha comido o se ha lavado la boca recientemente.

Epiglotis.

La epiglotitis es una celulitis de la epiglotis que tiene el potencial de causar obstrucción completa de la vía aérea. El diagnóstico es eminentemente clínico, a diferencia de otras formas de infección respiratoria aguda, la etiología es principalmente bacteriana, especialmente causada por *Haemophilus influenzae*. El hisopado de la epiglotis no se recomienda porque puede precipitar obstrucción respiratoria súbita. El estudio bacteriológico recomendado es hemocultivo. Cuando se han hecho estudios comparativos de muestras tomadas de la epiglotis, con cultivos de la sangre, la correlación no siempre es absoluta, unas veces puede demostrarse el patógeno en la sangre y otras veces en la epiglotis, pero debido al riesgo ya mencionado, es preferible sólo hacer los hemocultivos.

Senos paranasales.

La anatomía de la fosa nasal y senos paranasales Fig. 9.3). Para entender la bacteriología de la sinusitis aguda es muy importante conocer la forma de obtener las muestras para cultivo. El procedimiento debe ser efectuado por un otorrinolaringólogo y se trata de una punción del seno maxilar a través de la pared lateral de la cavidad nasal. Previo a la punción, se hace una desinfección minuciosa de la cavidad nasal para evitar al máximo la contaminación de la muestra. El trocar se coloca debajo del cornete nasal inferior para penetrar la cavidad del seno. Los cultivos del material aspirado deben ser cuantitativos para discriminar

posible contaminación, considerándose importante un crecimiento igual o mayor de 10^4 organismos/ mL de determinado agente patógeno.

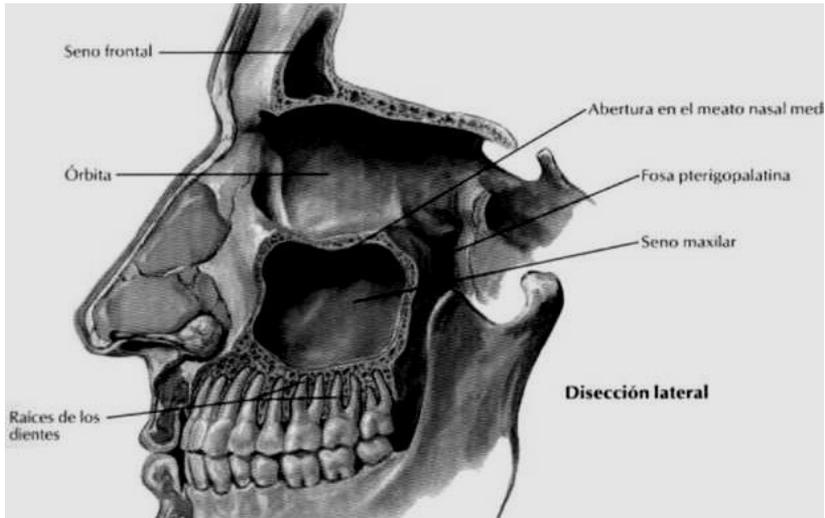


Figura 9.3. Anatomía de la fosa nasal y senos paranasales.

En forma alterna y para evitar la punción del seno, se pueden obtener cultivos por endoscopia del seno, los resultados son comparables. El endoscopio se introduce por el meato medio, adyacente al ostium del seno, aspirando o usando un hisopo fino para obtener el material. Con este procedimiento el riesgo de contaminación del seno es alto.

BIBLIOGRAFIA.

Cassidy PK, et al. Viability of *Bordetella pertussis* in four suspending solutions at three temperatures. JClinMicrobiol 1994, 32:1550.

Hallander HO. Comparison of nasopharyngeal aspirates with swabs for cultures of *Bordetella pertussis*. JClinMicrobiol . 1993,31:50.

Hsin CH et al. Comparison of sinus puncture with endoscopic middle meatal culture in pediatric rhinosinusitis. AmJRhino1.2008, 22:80-84.

Joniau S. et al. Microbiology of sinus puncture versus middle meatal aspiration in acute bacterial maxillary sinusitis. *AmJRhinol.* 2005, 19:135-40.

Shulman ST et al. Streptococcal Pharyngitis Cap. 5 en Stevens DC, Kaplan EC *Streptococcal Infections.* 2000, Oxford University Press, New York. p. 82-83.

10

**MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO
INFERIOR
PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO**

El tracto respiratorio inferior o bajo, está formado por la laringe, la tráquea, los bronquios, bronquiolos y alvéolos pulmonares. En condiciones normales estos sitios anatómicos no están colonizados por bacterias, aunque ocasionalmente, sobre todo en la laringe y la tráquea, pueden encontrarse escasas bacterias que han llegado allí producto de la aspiración de secreciones de la vía respiratoria superior, sobre todo durante el sueño. Aunque los volúmenes aspirados son muy pequeños, su contenido de bacterias es alto, y a veces esta aspiración de bacterias puede ser significativa. Ordinariamente este es un fenómeno transitorio, pero también es la forma en que organismos potencialmente patógenos que residen en el tracto respiratorio superior llegan a la parte baja de la vía aérea y si logran adherirse al epitelio, establecen residencia y causan infección. Así se producen las formas de enfermedad como laringitis, traqueítis, bronquitis y neumonía o combinaciones de ellas como laringo-traqueo-bronquitis y bronconeumonía.

Cultivar en forma significativa las secreciones del tracto respiratorio inferior es un proceso frustrante. Ya Bartlett en 1974 había expresado que “el cultivo de muestras respiratorias puede resultar en más esfuerzo microbiológico innecesario que cualquier otro tipo de espécimen”.

Obtención de muestras:

En algunas infecciones del tracto respiratorio inferior está indicado obtener muestras para cultivo de secreciones de la vía superior, si se trata de investigar organismos que no forman parte de la microbiota normal, como *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae* o *Mycoplasma pneumoniae*. Aparte de estas excepciones, las muestras que se necesitan para estudiar infecciones del tracto respiratorio inferior

se obtienen indirectamente (esputo) o directamente (aspirado traqueal, lavado o cepillado bronquial, y lavado bronquio alveolar).

Esputo.

Es preferible obtener las muestras al levantarse de la cama por la mañana. El esputo está formado por secreciones del tracto respiratorio bajo, que al ser expectoradas se mezclan en mayor o menor grado con secreciones de la faringe y de la boca. Para disminuir la contaminación con organismos de la vía superior, el paciente debe lavarse la boca y hacer enjuagatorios de la garganta (“gárgaras”) con agua limpia antes de expectorar la secreción. Si usa dentaduras, debe retirarlas antes del aseo buco-faríngeo. Luego, el paciente debe hacer el esfuerzo de toser y expulsar la secreción traqueal y recogerla en un frasco estéril de tapadera hermética y transportarla prontamente al laboratorio.

Si el propósito del examen es investigar *M. tuberculosis*, no es indispensable usar un frasco estéril, pero sí debe ser un frasco limpio. Estas muestras son normalmente sometidas a un proceso de descontaminación antes de ser cultivadas.

Muchas veces el paciente no puede expectorar espontáneamente para obtener la muestra de esputo. En esos casos se puede recurrir a obtener un “esputo inducido”, que consiste en nebulizar al paciente con una solución hipertónica de cloruro de sodio 3%, usando 10 mL en un nebulizador ultrasónico durante 15 a 30 minutos. Este es un método directo menos invasivo que la broncoscopia. El procedimiento ha sido usado para obtener muestras en pacientes con sospecha de neumonía por bacterias comunes o cuando hay sospecha de tuberculosis. Los cultivos a efectuar deben hacerse en forma cuantitativa para discriminar, en base a la cantidad de crecimiento, si es una contaminación o un crecimiento significativo.

Cuando se sospecha tuberculosis pulmonar es muy importante que el procedimiento para la inducción de esputo se haga en un ambiente protegido para evitar que la producción de aerosoles contamine al personal médico y auxiliar.

Una vez en el laboratorio, la muestra debe ser evaluada microscópicamente antes de ser cultivada. Se efectúa una coloración de Gram y se examina con objetivo de bajo poder (10X). Se han establecido diversos criterios (Tabla 10.1) para considerar una muestra adecuada de esputo. De acuerdo con el procedimiento recomendado, la muestra podrá ser rechazada si no reúne las condiciones.

Tabla 10.1: Criterios de tamizaje de muestras de esputo para estudio bacteriológico

Autor	Método	Criterio mínimo para una muestra aceptable
Bartlett	Suma de LPMN (10-25= 1+; >25= 2+, moco (1+), CEE (10-25= -1; >25= -2).	0
Murray y Washington	CEE	<10
Geckler et al	CEE	<25
Van Scoy	LPMN	>25
Heineman y Radano	Relación LPMN/CEE	>10
Kalin	Relación LPMN/CEE	>5
Morris et al	Relación LPMN/CEE y presencia o ausencia de bacterias en el Gram (100X)	<10 y presencia de organismo
Saidi y Reller	Presencia o ausencia de organismos en el Gram (100X)	Presencia de bacterias

LPMN= leucocitos polimorfonucleares CEE= células epiteliales escamosas
100X= examen con lente de inmersión

Aunque estos criterios son variados, el criterio que se usa más comúnmente es rechazar la muestra si el número de células epiteliales escamosas es mayor de 10 por campo cuando la muestra se examina con lente de magnitud 10X, ya que su presencia indica contaminación excesiva con secreciones de la boca.

Es difícil obtener muestras de esputo en niños. Cuando se desea investigar *M. tuberculosis* es preferible obtener muestras de secreción gástrica por lavado del estómago.

Secreción obtenida por broncoscopia.

Las muestras de lavado bronquial, cepillado bronquial y lavado bronquio-alveolar obtenidas por broncoscopia deben colocarse en un recipiente estéril, preferentemente un tubo con fondo cónico y transportadas prontamente al laboratorio. Los cultivos deben ser cuantitativos.

BIBLIOGRAFIA.

Bartlett JG et al. Practice guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults. *ClinInfDis*. 2000, 3:347-382.

Cantral DE., et al. Quantitative culture of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of bacterial pneumonia, *AmJMed*. 1993, 95:601-7.

Hindiyeh M, Carroll K. Laboratory diagnosis of atypical pneumonia. *SemRespInf*. 2000: 15:101-113.

McCarter YS. Best laboratory practices for respiratory cultures. *ClinMicrobiolNewslette*. 2013, 35: 35-43.

McWilliams T., et al. Induced sputum and bronchoscopy in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Thorax*. 2002, 57:1010-14.

Schoch OD., et al. Diagnostic yield of sputum, induced sputum and bronchoscopy after radiologic tuberculosis screening. *AmJRespCritCare*. 2007, 175:80-86.

Sharp SE, Robinson A, Saubolle M, et al. 2004, Cumitech 7B, Lower respiratory tract infections. ASM Press, Washington, D.C.

11

MUESTRAS DE LOS OÍDOS PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

Al considerar la toma de muestras del oído hay que tomar en cuenta si se trata de una otitis externa o de una otitis media.

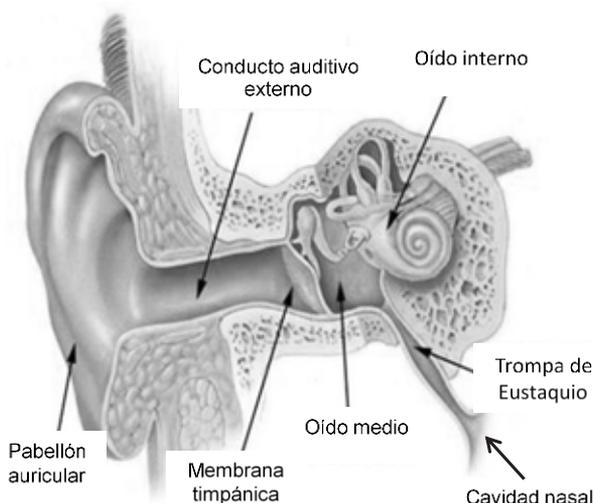


Figura 11.1: Anatomía del oído

Otitis externa.

El canal auditivo externo (Fig. 11.1) tiene una extensión de 2 a 2.5 cm desde la concha del pabellón auricular hasta la membrana timpánica. Hacia la parte lateral el canal tiene una pared cartilaginosa y la piel que lo recubre es más gruesa, tiene una dermis y tejido subcutáneo bien desarrollados. Hacia la parte medial, el conducto está directamente limitado por el hueso temporal del cráneo, la piel es delgada, no tiene

tejido subcutáneo y se apoya directamente en el periostio. La otitis externa es similar a una infección de la piel y tejidos blandos de otros sitios. Puede ser aguda y localizada, aguda y difusa, crónica o una forma llamada maligna, que se refiere a extensión a los tejidos adyacentes.

Obtención de la muestra del oído externo.

Para obtener una muestra del canal auditivo externo, primero se hace una limpieza del pabellón auricular y la concha con un hisopo impregnado con alcohol etílico o isopropílico 70%. Es conveniente alinear el conducto halando el pabellón auricular suavemente hacia atrás y hacia arriba, luego, se introduce con cuidado un hisopo delgado, preferentemente de alambre flexible, y se rota varias veces para obtener el exudado en el conducto. Si es necesario apoyarse en la pared del conducto, hay que hacerlo en la parte lateral, donde la piel es más gruesa, de lo contrario, apoyarse en la parte medial puede rasgar la piel delgada y ocasionar un sangrado. El hisopo se retira con cuidado y se introduce en un tubo de transporte y se lleva prontamente al laboratorio.

Otitis media.

A diferencia de la otitis externa, la otitis media aguda es la inflamación y acumulación de fluido en la cavidad del oído medio a consecuencia de un proceso infeccioso, aunque puede haber acumulación de líquido en el oído medio, sin signos de infección, por alergia, barotrauma o como secuela de otitis media aguda. La otitis media aguda es una enfermedad eminentemente de niños con una edad promedio de tres años y puede presentarse en varios episodios y aunque su incidencia ha disminuido después de la introducción de las vacunas contra neumococo y *Haemophilus influenzae* tipo B, aún se observan casos, incluyendo los causados por otros serotipos de *H. influenzae* que no son prevenidos por la vacuna.

Obtención de la muestra en pacientes con otitis media aguda.

Cuando se acumula líquido o pus en el oído medio, aumenta la presión interna y abulta la membrana timpánica. Para obtener muestra en esos casos es necesario hacer una timpanocentesis. Este procedimiento

debe ser efectuado por un otorrinolaringólogo o por un pediatra adiestrado en el procedimiento.

Cuando a causa de la presión por el contenido del oído medio, la membrana se ha roto, drena por el canal auditivo externo, en esos casos, se puede obtener la muestra con un hisopo después de una limpieza externa del pabellón auricular y la concha con alcohol etílico o isopropílico 70%. El hisopo se coloca en un tubo de transporte y se envía prontamente al laboratorio.

12

MUESTRAS DE LOS OJOS PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

Anatómicamente el globo ocular, el órgano periférico del aparato visual, se encuentra situado en la cavidad esquelética del cráneo llamada órbita, cuyas paredes lo protegen y le brindan un soporte rígido, ya que en ellas se insertan los músculos externos que le dan movilidad.

El globo ocular está compuesto de los segmentos de dos esferas de diferente radio (Fig. 12.1). El segmento anterior, parte de la esfera más pequeña, constituye cerca de 7% de la superficie de todo el globo ocular, los límites son la córnea y el cristalino (lente) y está incompletamente subdividido en las cámaras anterior y posterior por el iris. Estas cámaras son continuas a través de la pupila y contienen el humor acuoso. El segmento posterior está formado por las estructuras del ojo que están detrás del cristalino (lente) y su ligamento de apoyo (zónula), incluye el cuerpo vítreo, la retina, la coroides, el tracto uveal y la esclerótica.

El contenido del ojo está cubierto por tres capas. La más externa es una capa fibrosa continua, formada por la esclerótica en la parte posterior (opaca) y la córnea en la parte anterior (transparente). Esta capa es una estructura semi-elástica y su parte externa sirve para la inserción de los músculos extra oculares. La capa intermedia es la túnica vascular o tracto uveal, compuesto por la coroides, el cuerpo ciliar y el iris, que forman también una estructura continua. Internamente, la coroides cubre la esclerótica, el cuerpo ciliar continúa hacia el frente desde la coroides hasta la circunferencia del iris, que es un diafragma circular situado detrás de la córnea y enfrente del cristalino, con una apertura central, la pupila. La tercera capa, más interna, es la capa neural o retina, que constituye la parte sensorial del ojo. Esta es una estructura compleja que debe ser considerada una zona especial del cerebro, de donde deriva, y es parte del aparato visual que se extiende hacia las porciones internas del cerebro a través del nervio óptico.

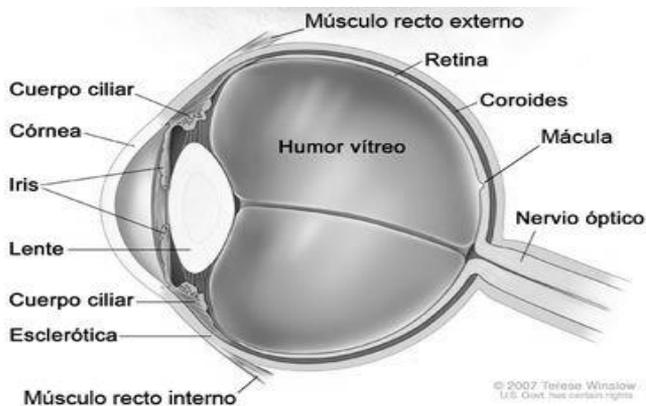


Figura 12.1: Anatomía del ojo

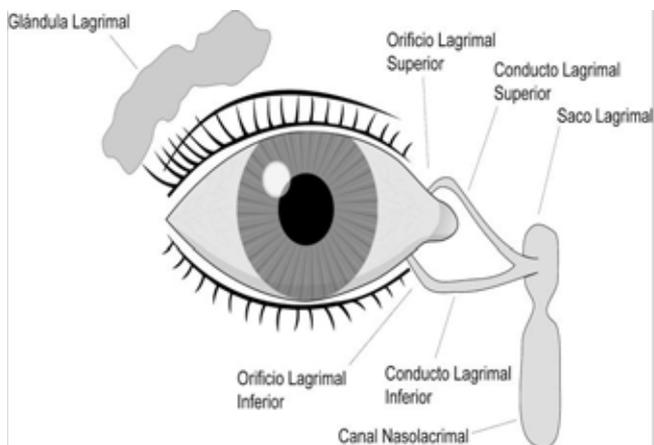


Figura 12.2: Estructura externa del ojo

Las estructuras externas adyacentes del ojo incluyen la glándula lagrimal, los párpados, los canaliculos lagrimales, el saco lagrimal y la conjuntiva (Fig. 12.2). La conjuntiva es una membrana mucosa continua, que recubre el interior de los párpados (conjuntiva palpebral) y la parte anterior del globo ocular (conjuntiva bulbar) y se extiende hasta el límite

de la córnea. Es una membrana vascularizada y produce una secreción mucoide. El epitelio que la recubre (epitelio conjuntival) descansa sobre la sustancia propia de la membrana, que contiene células de tejido linfoide.

El globo ocular y las estructuras adyacentes están predispuestos a infecciones por diversos microorganismos. Las indicaciones y técnicas para la investigación microbiológica de las mismas dependen del sitio afectado, del ritmo de progresión, severidad y conocimiento de los organismos más comúnmente involucrados.

Hay una amplia variedad de procesos infecciosos que afectan a los ojos. La siguiente lista incluye los más comunes, (Cuadro 12.1):

Cuadro 12.1

FORMAS CLÍNICAS MÁS COMUNES DE INFECCIÓN OCULAR

- Conjuntivitis purulenta aguda
- Conjuntivitis neonatal
- Conjuntivitis folicular aguda
- Conjuntivitis folicular crónica
- Keratitis supurativa
- Keratitis epitelial no supurativa
- Dacriocistitis aguda
- Úlcera corneal
- Infecciones de los párpados (dermatoblefaritis, celulitis, impétigo, fasciitis necrotizante post traumática, anexitis, blefaritis)
- Infecciones del sistema lagrimal (dacrioadenitis, canaliculitis, dacriocistitis)
- Celulitis orbital aguda
- Celulitis orbital crónica
- Endoftalmitis (infección del cuerpo vítreo, humor acuoso o ambos)
- Retinitis infecciosa
- Uveítis

Del contenido de esta lista puede apreciarse que las infecciones de los ojos constituyen un problema complejo. El personal de laboratorio puede obtener algunas de las muestras para estudio microbiológico, particularmente de la parte expuesta del ojo. En muchos casos es el especialista quien obtiene la muestra y es conveniente que sea asistido por personal de laboratorio con experiencia para lograr el máximo de las muestras obtenidas, ya que en general se trata de muestras pequeñas.

Conjuntivitis purulenta aguda: Afecta a personas de todas las edades, su etiología es muy variada e incluye virus, bacterias, hongos, protozoos y alérgenos. La conjuntivitis bacteriana es menos frecuente que la conjuntivitis viral. Los síntomas de conjuntivitis aguda incluyen lagrimeo, sensación de irritación, que los pacientes describen como sensación de sucio en el ojo o presencia de cuerpo extraño; a veces hay dolor, sobre todo si hay ulceración de la membrana conjuntival o invasión de la córnea, sensación de prurito (picazón), que está más asociada con etiologías no bacterianas. Algunas conjuntivitis se asocian con cambios en la piel de los párpados. Las formas hemorrágicas son más comunes cuando la causa es viral y pueden ser epidémicas. A veces son francamente purulentas.

Existe mucha controversia sobre la etiología bacteriana de la conjuntivitis aguda. Por un lado la superficie del ojo no es estéril y es importante saber interpretar lo que crece en los cultivos y no atribuir todo crecimiento de bacterias como la causa del problema. Por otro lado, es frecuente que a pesar de haber una infección bacteriana los cultivos son negativos. Cuando hay una causa bacteriana de conjuntivitis, se presenta edema palpebral unilateral, eritema conjuntival y exudado muco-purulento, seguido de afección del otro ojo uno a dos días después. Los agentes más comunes son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Chlamydia trachomatis*, enterobacterias y menos frecuentemente *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Pseudomonas aeruginosa*. La causa más frecuente de conjuntivitis hiperaguda es *Neisseria gonorrhoeae* pero también puede ser ocasionada por *Neisseria meningitidis*.

Conjuntivitis neonatal (oftalmia neonatorum). Ocurre en las primeras cuatro semanas después del parto, es causada por bacterias, virus o reacción a químicos. Las causas bacterianas incluyen *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* y con menos frecuencia otras bacterias.

Conjuntivitis crónica. Si el cuadro clínico de conjuntivitis tiene una evolución de más de cuatro semanas, se considera una conjuntivitis crónica. Puede tener diversa etiología, pero no debe dejar de investigarse la presencia de *Chlamydia trachomatis*. Este organismo estimula una proliferación del tejido linfoide conjuntival (conjuntivitis folicular) en adultos, a menudo es de transmisión sexual. Generalmente se presenta como una conjuntivitis indolente crónica. Las infecciones repetidas pueden llegar a producir tracoma, sobre todo cuando el agente pertenece a los serotipos A, B, Ba y C.

Obtención de las muestras de exudados oculares externos.

El personal de laboratorio debidamente adiestrado puede obtener muestras de la parte externa del ojo sobre todo cuando se trata de conjuntivitis. Idealmente el laboratorio debe contar con una espátula de Kimura (Fig. 12.3), ya que se puede esterilizar y es suficientemente flexible para no ocasionar daño a las estructuras del ojo.

Figura 12.3: Espátula de Kimura



No se recomienda el uso de hisopos para tomar estas muestras ya que en general el material es escaso. Si se tienen que usar, deben ser de fibras de poliéster o alginato de calcio. La muestra preferentemente debe ser sembrada inmediatamente en los medios apropiados.

Las muestras para cultivos bacteriológicos deben obtenerse antes de la instilación de anestésicos tópicos. A veces los pacientes tienen mucho dolor o temor cuando se pretende obtener muestras directamente de la superficie ocular, si se tiene que utilizar un anestésico tópico, se prefiere el clorhidrato de proparacaína 0.5%, que no interfiere con la apariencia de las células en la muestra.

Las muestras deben obtenerse del sitio afectado cuando se puede acceder al mismo en forma segura. Si hay un exudado, este debe recogerse y si es posible hacer un barrido suave sobre la superficie conjuntival para obtener células y estudiarlas. Si hay vesículas, deben romperse con cuidado para tomar células de la base. Si son úlceras corneales también se debe obtener un raspado de la base aunque en estos casos es preferible contar con el apoyo del oftalmólogo.

Las muestras para investigación de *Chlamydia trachomatis* deben obtenerse por raspado de la conjuntiva tarsal inferior y superior utilizando la espátula de Kimura. Las muestras deben dejarse secar y fijarse prontamente en metanol 95% (para coloración de Giemsa y acetona pura (para inmunofluorescencia directa).

BIBLIOGRAFIA.

Wilhelmus KR, Liesegang TJ, Osato MS, Jones DB. 1994, Cumitech 13A, Laboratory diagnosis of ocular infections. ASM Press, Washington, D.C.

13

MUESTRAS DE LÍQUIDO SEMINAL (SEMEN) PARA EXAMEN BACTERIOLOGICO

Hay diferentes infecciones que afectan los órganos reproductivos del varón y las glándulas accesorias. En algunos casos el examen bacteriológico del líquido seminal puede ser de utilidad para establecer la etiología del problema.

Prostatitis crónica.

La prostatitis bacteriana crónica ocasiona una serie de síntomas cuya característica principal es la ocurrencia de infecciones recidivantes de la vía urinaria, usualmente causadas por el mismo agente patógeno. La secreción prostática contiene generalmente más de 10 leucocitos por campo de alto poder y macrófagos.

La prostatitis crónica es un problema relativamente frecuente. Hasta 50% de los varones pueden tenerlo alguna vez en su vida. Cerca del 10% tiene una etiología bacteriana, *E. coli* es la causa de más del 80% de los casos, otros organismos como *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* también producen prostatitis pero no crecen en los cultivos bacterianos de rutina, de manera que muchos de estos casos son interpretados como prostatitis no bacteriana si no se hacen los estudios especiales para demostrarlos.

Obtención de la muestra.

El método estándar para la colección de muestras fue definido en 1968 por Meares y Stamey (Cuadro 13.1). Se utilizan cuatro recipientes estériles para muestras de:

Cuadro 13.1

**INSTRUCCIONES PARA OBTENER MUESTRAS DE SEMEN
PARA CULTIVO BACTERIOLOGICO
(Método de Meares y Stamey)**

1. Primeros 10 mL de la micción.
2. 10 mL de la porción intermedia de la micción, después de que el paciente ha orinado 150 mL.
3. Secreción prostática obtenida por masaje prostático.
4. Orina post masaje prostático (obtenida inmediatamente después del masaje).
5. Rotular cada muestra y enviar prontamente al laboratorio.

Como método alternativo en lugar de la muestra obtenida por el masaje prostático, se ha propuesto la obtención del semen por estimulación directa (masturbación) en el paso 3. Se ha demostrado que el cultivo de semen obtenido en esta forma es más sensible que el cultivo de la secreción prostática post masaje. Se debe recomendar al paciente que antes de proceder a obtener la muestra, haga un minucioso aseo de manos, de la región genital y debe tener disponible un frasco estéril para la muestra de semen.

BIBLIOGRAFIA.

Budia A. et al. Value of semen cultures in the diagnosis of chronic bacterial prostatitis. *ScandJUrolNephrol* 2006, 40:326-31.

Meares EM, Stamey TA. Bacteriologic localization patterns in bacterial prostatitis and urethritis. *InvestUrol* 1968, 5:492-518.

Sibert L et al. Diagnostic value of Stamey's test in chronic prostatitis. *ProgUrol* 1996, 6:107-111.

Zegarra Montes LR, et al. Semen and urine culture in the diagnosis of chronic bacterial prostatitis. *ClinUrol* 2008, 34:30-40.

14

MUESTRAS DE SECRECIONES, EXUDADOS Y ÚLCERAS GENITALES PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

Al considerar los órganos genitales, hay que tomar en cuenta si se trata de un hombre, una mujer, un niño o una niña y en ambos sexos definir si las muestras serán obtenidas de los genitales internos o externos. Otra consideración muy importantes es la sospecha de infecciones de transmisión sexual versus infecciones endógenas no transmitidas sexualmente.

En los hombres, los órganos genitales internos incluyen los testículos, el epidídimo, las vesículas seminales, la próstata y la uretra proximal, el órgano genital externo es el pene, (Fig. 14.1).



Figura 14.1 Tracto genital masculino

En la mujer los órganos genitales internos son los ovarios, las trompas de Falopio, el útero, el cuello uterino y la vagina con sus glándulas accesorias (Fig.14.2), los órganos genitales externos son los labios vulvares.

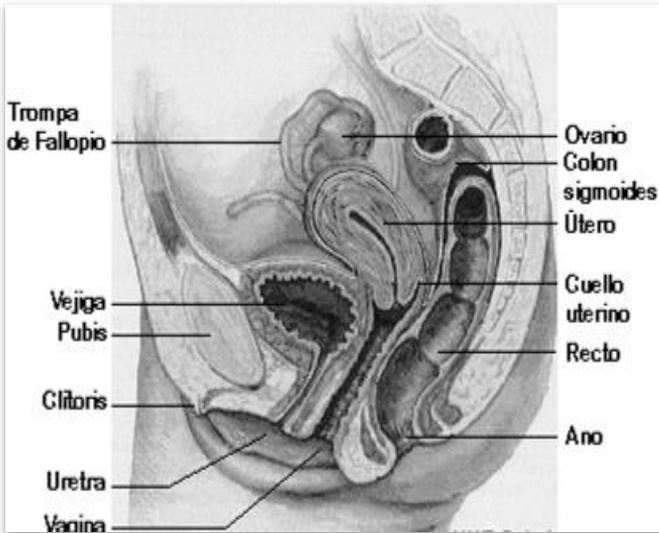


Figura 14.2 Tracto genital femenino

Debido a que los órganos genitales, particularmente la uretra y el surco balano-prepucial en el varón y la vagina y los labios vulvares en la mujer contienen una gran cantidad de organismos que constituyen la microbiota normal, es muy importante la selección de las muestras y el método de obtención de las mismas.

Existen diversas infecciones que afectan los órganos genitales y en general están limitados a sitios específicos, por lo que es necesario saber obtener la muestra de acuerdo con la sospecha clínica.

En la uretra, tanto en el varón como en la mujer, normalmente residen enterobacterias, enterococos, difteroides, estreptococos alfa y gamma

hemolíticos, estafilococos coagulasa negativa y anaerobios, particularmente en la porción más distal. Los agentes más importantes a investigar son organismos de transmisión sexual: *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, en ambos sexos.

La mucosa vaginal y el exocervix están habitados normalmente por *Lactobacillus spp*, enterobacterias, estreptococos alfa y gamma hemolíticos, enterococos, difteroides, estafilococos coagulasa negativo y anaerobios. Además hay otros organismos que residen habitualmente en muy pequeño número, pero que bajo diversas circunstancias pueden proliferar causando irritación local (*Gardnerella vaginalis*) o inflamación de la mucosa (*Candida spp*). En las muestras vaginales es mucho más importante el estudio microscópico, ya que los cultivos casi nunca demuestran organismos de importancia clínica y más bien los resultados de estos exámenes tienden a confundir al médico.

El endocervix normalmente se considera estéril o mínimamente contaminado con organismos del exocervix. En esta localización pueden haber agentes de transmisión sexual como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, virus de Herpes simplex tipo II, virus de Papiloma humano. Puede haber infecciones endógenas del endocervix por virus Herpes simplex tipo I y virus de inclusión citomegálica.

El endometrio, las trompas de Falopio y los ovarios son normalmente estériles. Pueden ser afectados por organismos de transmisión sexual como *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* o por infecciones endógenas causadas por *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Actinomyces spp* (en pacientes con dispositivos intrauterinos anticonceptivos). Las complicaciones más serias de las infecciones de las trompas de Falopio son infertilidad y embarazo ectópico, especialmente en el caso de la infección por *Chlamydia trachomatis*, que puede ser asintomática y se vuelve necesario buscar la presencia de este organismo en el endocervix para prevenir estas complicaciones.

Los genitales externos y la piel de la región perineal contienen normalmente difteroides, estafilococos coagulasa negativa, *Acinetobacter* y enterobacterias. Dichos sitios pueden ser afectados por

organismos de transmisión sexual como virus de Herpes simplex II, virus Papiloma humano, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi* (agente de chancro blando), *Chlamydia trachomatis* serotipos L1-L3 (agentes de linfogranuloma venéreo), *Calymatobacterium (Klebsiella) granulomatis* (agente del granuloma inguinal) o por organismos que no son de transmisión sexual como Herpes simplex Tipo I, *Candida spp* y *Streptococcus pyogenes*. La piel de la región genital es afectada por la formación de úlceras en algunas de estas infecciones y por lo general, el estudio de una úlcera debe comprender los exámenes para las distintas etiologías, ya que los signos clínicos se traslapan. La formación de úlceras también puede ocurrir en las mucosas.

Siempre debe considerarse que los órganos genitales pueden ser la puerta de entrada de virus como el VIH, virus de hepatitis B y virus de hepatitis C.

Obtención de las muestras en adultos.

Uretra. Cuando existe uretritis, sobre todo en el varón, la infección se manifiesta por la aparición de una secreción que en el caso de gonorrea suele ser abundante, de aspecto purulento o lechoso y en el caso de *Chlamydia* suele ser escasa, clara y mucóide u opalescente. A veces la secreción únicamente se manifiesta porque el paciente (varón) nota que mancha su ropa interior. La muestra se obtiene utilizando un hisopo delgado con fibra de alginato de calcio y mango de aluminio, que se introduce en la uretra rotándolo lentamente. Cuando hay poca secreción, la introducción del hisopo puede causar dolor y es conveniente humedecerlo previamente con solución salina estéril. La muestra debe ser sembrada prontamente en los medios apropiados (usualmente medio de Thayer-Martin) y se coloca en una lámina portaobjetos para coloración de Gram y en otra lámina para el examen de *Chlamydia* por inmunofluorescencia. De lo contrario, se debe usar un medio de transporte para preservar la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* ya que es muy susceptible al ambiente. Tanto la lámina para la coloración de Gram como la lámina para estudio de *Chlamydia* deben dejarse secar antes de fijarlas. Una vez secas, se deben transportar al laboratorio tan pronto como sea posible. Lo ideal es tomar estas muestras en el laboratorio.

Endocervix. Ante la sospecha de gonorrea o infección por *Chlamydia* en la mujer, la muestra debe obtenerse del endocervix con un hisopo estéril, previa limpieza del exocervix. El espécimen que se obtiene debe ser colocado en los medios de cultivo para gonococo lo más pronto posible y las láminas portaobjetos para coloración de Gram y examen por *Chlamydia* se deben tratar en la misma forma descrita en el párrafo anterior.

Cuando se sospecha gonorrea en la mujer es conveniente tomar también muestras de la uretra y del canal rectal, ya que algunas veces el organismo causal solo se demuestra en estos sitios.

Endometrio. Las muestras de endometrio se obtienen en mejor forma por succión o con una cureta. No se deben obtener con hisopos no protegidos a través del cuello uterino, porque los resultados del cultivo estarán contaminados con organismos de origen vaginal, que son los mismos que pueden ocasionar endometritis y si la muestra no se obtiene debidamente, no hay manera de saber de dónde proceden.

Vagina. Dada la gran cantidad de organismos que pueden estar presentes en la mucosa vaginal, los cultivos para bacterias no son muy demostrativos. Es preferible enfatizar en los exámenes microscópicos en fresco y en la coloración de Gram. La muestra se obtiene utilizando un hisopo estéril y llevándolo prontamente al laboratorio en un medio apropiado de transporte. Aunque es posible demostrar *Chlamydia* en la secreción vaginal, es preferible no usar este tipo de muestra para investigar esta bacteria. Este organismo no vive en las células escamosas del epitelio vaginal y no produce vaginitis.

Si se desea investigar estreptococo de grupo B se sugiere obtener dos hisopos, uno del introito vaginal y otro de la región anorectal. Los cultivos del endocervix para este propósito no son recomendados.

La vaginosis bacteriana se puede diagnosticar de varias formas. La demostración de gran número de bacilos pequeños Gram positivo y Gram negativo (Gram variables) y la presencia de células epiteliales escamosas cubiertas de bacterias ("clue cells"), son hallazgos característicos, sin embargo, esta apariencia tiene un 18% de falsos

positivos porque otros organismos, además de *Gardnerella*, pueden también dar esta imagen. Por otro lado, hasta un 10% de los resultados negativos pueden ser falsos. Pero si la presencia de “clue cells” se suma a la producción de aminas, detectadas mezclando partes iguales de líquido vaginal con KOH 10% (resultado positivo es la percepción de un olor a pescado), tiene un valor predictivo negativo de 99%, cuando ambos resultados son negativos.

Úlcera genital. Tanto las úlceras en la piel de la región genital como en la mucosa deben investigarse para buscar diversos agentes. Preferentemente debe hacerse un raspado superficial del lecho de la úlcera con una gasa, espátula o asa bacteriológica. Esto se hace con suavidad pero tratando de ocasionar un ligero sangrado, particularmente cuando se desea hacer un examen para demostrar *Treponema* con una preparación en campo oscuro, ya que estos organismos residen en el endotelio vascular. Debe evitarse el sangrado excesivo, si ocurre debe secarse con una gasa y mantener presión digitalmente a los lados de la úlcera para poder exprimir linfa de la lesión, basta con una gota tomada directamente al poner la lámina sobre la úlcera, para hacer el examen. Si hay exudado superficial (pus) se hace una lámina aparte para coloración de Gram y otra para coloración de Giemsa o Wright (el agente del granuloma inguinal no se puede demostrar fácilmente con la coloración de Gram, pero es muy evidente, cuando se usan estas coloraciones).

Ante la sospecha de linfogranuloma venéreo es muy difícil demostrar el agente etiológico en las lesiones genitales ulceradas o en los ganglios inguinales y en estos casos es preferible el estudio serológico (anticuerpos anti *Chlamydia trachomatis*.)

Absceso de la glándula de Bartolino: el pus del absceso puede colectarse a veces a través de los conductos de Bartolino haciendo palpación digital para exprimirlo, si no, se puede aspirar con una jeringa igual que otro absceso. La aguja de la jeringa se cubre con la tapadera plástica y se envía en esa forma al laboratorio.

Líquido peritoneal en la enfermedad inflamatoria pélvica. Las muestras siempre deben ser obtenidas por técnicas invasivas, llevadas

a cabo por el médico ginecólogo. El material de las trompas de Falopio o de los ovarios se puede obtener durante procedimientos quirúrgicos. El líquido peritoneal también puede ser aspirado de fondo de saco posterior (culdocentesis).

BIBLIOGRAFIA.

Baron EJ, Gassell GH, Duffy LB, et al. 1993. Cumitech 17A, Laboratory diagnosis of female genital tract infections. ASM Press, Washington, D.C.

Sexually transmitted diseases. P. 76-85, en: J Vandepitte, J Verhaegen, K Engbaek, et al. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2003, World Health Organization, Geneva.

Van Dyck E., Meheus A.Z., Piot P. Laboratory diagnosis of sexually transmitted diseases. 1999, World Health Organization, Geneva.

15

MUESTRAS DE TEJIDOS PARA EXAMEN BACTERIOLÓGICO

Las muestras de tejidos para cultivo bacteriológico pueden proceder de sitios infectados con agentes patógenos, de sitios contaminados con organismos de la microbiota normal o de sitios normalmente estériles. En cualquiera de los casos la biopsia (fragmento de tejido) debe ser obtenida utilizando una técnica rigurosa de asepsia, colocarse en un recipiente estéril bien tapado y enviarse prontamente al laboratorio de Bacteriología. Si se anticipa algún atraso en el envío de la muestra, se puede colocar en el mismo recipiente una pequeña gasa o algodón estériles humedecidos con solución salina estéril con el objeto de preservar la humedad de la muestra.

En algunos casos particulares, por ejemplo, biopsias de la mucosa gástrica para el cultivo de *Helicobacter pylori*, la muestra, que generalmente es pequeña, debe colocarse en un medio de transporte.

Cuando se trata de tejidos obtenidos post-mortem, debe tenerse mucho cuidado y anotarse el tiempo y la hora de defunción del paciente, ya que muchas muestras pueden dar resultados falsos positivos debido a la diseminación de bacterias en el cadáver.

BIBLIOGRAFIA.

Brewer N S, Weed LA. Diagnostic tissue microbiology methods. HumanPathol, 1976, 7: 141 -149.

Caplan, M. J., and F.P. Koontz 2001. Cumitech 36. Postmortem microbiology. ASM Press, Washington, D.C.

CONTENIDO

Capítulo 1:	Conceptos generales.	1
Capítulo 2:	Muestras de sangre (método tradicional en frascos o botellas de medio líquido)	8
Capítulo 3:	Muestras de médula ósea.	13
Capítulo 4:	Muestras de líquido céfalo-raquídeo.	15
Capítulo 5:	Muestras de líquidos pericárdico, pleural, peritoneal y articular.	21
Capítulo 6:	Muestras de orina.	23
Capítulo 7:	Muestras de heces.	30
Capítulo 8:	Muestras de exudados (pus), úlceras cutáneas, heridas operatorias y fístulas.	34
Capítulo 9:	Muestras del tracto respiratorio superior.	38
Capítulo 10:	Muestras del tracto respiratorio inferior.	45
Capítulo 11:	Muestras de los oídos.	49
Capítulo 12:	Muestras de los ojos.	52
Capítulo 13:	Muestras de secreción seminal (semen)	58
Capítulo 14:	Muestras de secreciones, exudados y úlceras genitales.	60
Capítulo 15:	Muestras de tejidos.	67



**INSTITUTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y
PARASITOLOGIA ANTONIO VIDAL**
Tegucigalpa, Honduras

Misión

Somos un organismo privado hondureño sin fines de lucro comprometido en el desarrollo y promoción de actividades de investigación, capacitación y consultoría sobre enfermedades infecciosas y parasitología, asistiendo a instituciones gubernamentales y universitarias en sus funciones asistenciales, administrativas, técnicas y docentes, para contribuir al diagnóstico clínico-epidemiológico, manejo, control y prevención de estas enfermedades y a mejorar la salud de las poblaciones afectadas

Visión

Constituirnos en un instituto referente para la investigación y formación de talento humano en vigilancia, prevención y control de las enfermedades infecciosas y parasitología con proyección nacional e internacional, cuyas actividades estén integradas a las acciones sanitarias que mejoren la salud humana.