

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS Y SU ADECUADA RECOLECCIÓN

*Liliana Caldas Arias **
*Julieta B. Montero C. ***

INTRODUCCIÓN

El cuerpo humano posee una biota normal constituida por microorganismos que se hallan con frecuencia en la piel y mucosas de personas sanas, sin embargo, la línea de demarcación de aquello que constituye la flora nativa no es concluyente.

Algunas bacterias, denominadas patógenas por su capacidad de producir enfermedades infecciosas en la mayoría de la población humana pueden considerarse miembros de la biota normal en un porcentaje menor de individuos sanos.

Por otra parte, la flora residente puede ser origen de muchas infecciones oportunistas cuando es removida de su microhabitat e introducida a ambientes diferentes, como penetrar tejidos más profundos a través de heridas traumáticas o incisiones quirúrgicas.

Existe una flora transitoria, conformada por agentes no patógenos o potencialmente patógenos que colonizan el cuerpo por periodos cortos de tiempo.

Si la flora residente es alterada, por ejemplo con tratamientos antimicrobianos prolongados, la flora transitoria también puede producir diversas infecciones. Pero la dificultad para definir estos conceptos no sólo se atribuye a las propiedades de los microorganismos sino también al estado inmunológico del huésped y su interacción con ellos.

Debido a los muchos factores que afectan el diagnóstico de una enfermedad infecciosa, es indispensable la cuidadosa selección y recolección de las muestras clínicas antes de proceder a su análisis microbiológico. Muchos fracasos en el aislamiento de los microorganismos se deben, más a menudo a una mala obtención de los especímenes clínicos o a deficiencias en el transporte, que a una falla en las técnicas de cultivo y/o tinciones.

El profesional de la salud debe asumir de manera responsable la aplicación y supervisión de las normas generales para una adecuada recolección de las muestras clínicas e insistir en que se sigan rigurosamente los protocolos específicos para cada una de ellas. De la calidad de las muestras dependerá la calidad del resultado y por lo tanto la consecución de un diagnóstico correcto.

* Bacterióloga y Laboratorista Clínico Universidad Católica de Manizales. Especializada en Microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana. Docente de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca.

** Bacterióloga y Laboratorista Clínico Universidad Católica de Manizales. Laboratorio hematología Especial, Docente Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca.

CONCEPTOS BÁSICOS

Aplicar correctamente la técnica de recolección requiere del conocimiento previo de una serie de pasos que a continuación se detallan:

Instrucciones Generales

1. Para que una muestra clínica represente el sitio donde se está llevando a cabo el proceso infeccioso, debe recolectarse con un mínimo de contaminación de tejidos o secreciones adyacentes.
2. Es favorable obtenerla en cantidad suficiente para asegurar un examen completo.
3. Se recomienda utilizar dispositivos y recipientes estériles, de tamaño y forma de acuerdo con el tipo de espécimen y técnica utilizada para su obtención.
4. Toda vez que sea posible las muestras deben extraerse antes de iniciarse el tratamiento antimicrobiano.
5. Establecer el momento óptimo para la recolección permite aumentar las posibilidades de recuperación de los diferentes agentes causales de la infección.
6. El cuerpo del envase es el sitio más apropiado para rotular de manera clara y correcta la muestra.
7. Durante la conservación y transporte debe evitarse el derrame, contaminación y temperaturas nocivas para las bacterias a cultivar.
8. El espécimen obtenido debe enviarse rápidamente al laboratorio. Los microorganismos de difícil crecimiento no sobreviven a un almacenamiento prolongado o pueden ser superados por otros menos exigentes o de la flora normal, produciéndose aislamientos no esperados en los medios de cultivo.
9. El lavado de manos es un requisito importante y que junto con el uso de guantes evita las infecciones cruzadas, contaminación de la muestra o transmisión de las infecciones al personal de la salud.
10. La orden médica contiene los datos del paciente, número de historia clínica, impresión diagnóstica, tipo de muestra, técnica de recolección empleada. Es relevante resaltar la importancia de realizar la solicitud de exámenes en forma específica y completa para evitar repetir procedimientos que generan un incremento en los costos y deterioro en la calidad de atención al paciente.

Instrucciones Específicas

Extracción de sangre para hemocultivo

El hemocultivo es un procedimiento muy utilizado para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Se hace ex-

tracción de la sangre de una arteria o vena mediante aguja y jeringa para luego inocularla en un medio de cultivo usualmente líquido. Es un método sencillo, mas sin embargo, requiere seguir estrictamente algunos parámetros como los aquí relacionados:

- Buena técnica aséptica, donde la limpieza mecánica es tan importante como el uso del antiséptico para remover la flora nativa de la piel en la zona de punción.
- El cambio de aguja con la que se puncionó al paciente por otra estéril al momento de introducir la sangre al medio de cultivo disminuye las posibilidades de contaminación de la muestra.
- La variable más importante es el volumen de sangre obtenido. A mayor cantidad de muestra, mayores son las posibilidades de recuperar las bacterias responsables del cuadro clínico. Se recomienda la obtención de 10 ml. de sangre en un paciente adulto, 5 ml en un niño y 1 ml en un recién nacido.
- El número de hemocultivos y el intervalo entre ellos depende de la situación clínica en la que se encuentre el paciente, pero cada muestreo debe realizarse en sitios anatómicos diferentes y no es conveniente extraer la muestra del mismo brazo canalizado para infusión, ni a través de un catéter.
- No tiene utilidad diagnóstica obtener un volumen de sangre para ser repartido al mismo tiempo en dos o tres medios de cultivo si cada uno no tiene requerimientos ni especificaciones distintas.
- El momento ideal de extracción usualmente es en picos febriles, media hora antes o en episodios de escalofríos, lo que permite mayor tasa de recuperación bacteriana.
- Si la terapia se ha iniciado antes de la obtención de la sangre o si se quiere determinar la presencia de bacterias inusuales se debe informar al laboratorio con el fin de que se proporcionen los medios para cada caso.

Exudado Faríngeo

Esta muestra se obtiene por frotamiento o escobillaje vigoroso de la faringe posterior o áreas de inflamación, exudado o ulceración. Es indispensable que el paciente no haya recibido tratamiento antimicrobiano previo.

Espuito

Es una muestra muy utilizada para identificación de agentes causales de infección en el tracto respiratorio superior, pero también es la que más contaminación sufre al paso por el tracto respiratorio superior.

Generalmente el mismo paciente es quien realiza la recolección, por lo cual debe recibir instrucciones precisas para

que obtenga una muestra producto de una expectoración profunda y no saliva o secreción retranasal, como a menudo sucede. Si el paciente es incapaz de producir esputo de forma activa, puede intentarlo con la ayuda de terapia respiratoria, hidratación o nebulización. La utilización de técnicas invasivas como aspiración transtraqueal, lavado bronquial, lavado broncoalveolar entre otras, garantizan la obtención de muestras sin contaminación del tracto respiratorio superior y resultados más definitivos.

Orina

La muestra de orina puede obtenerse mediante micción espontánea y cateterismo vesical, método menos recomendado por el alto riesgo de inducir infección nosocomial. En pacientes con sonda permanente se debe recoger la muestra de la sonda y nunca directamente de la bolsa.

El urocultivo y gram de orina sin centrifugar (GOSC) frecuentemente se realizan con orina por micción espontánea, pero también son las muestras que a menudo llegan al laboratorio contaminadas con flora uretral y/o secreciones vaginales, por lo cual resulta razonable y más económico cerciorarse que los pacientes, en especial las mujeres, entiendan y apliquen las instrucciones de obtención que podrían resumirse así:

- Buena higiene de genitales externos antes de proceder a la recolección.
- Porción media de la orina, excepto para la detección de micobacterias en la que se debe usar el volumen total de la muestra.
- Preferiblemente la primera orina de la mañana. Si realmente es prioritario el análisis, a cualquier hora del día se puede obtener.

Secreciones Cervico-vaginales

Este tipo de muestras usualmente son recolectadas por escobillaje bajo espéculo sin lubricante alguno. Es recomendable que en una misma paciente se tomen muestras de fondo de saco vaginal y de endocervix con un escobillón para cada sitio anatómico. Este mecanismo permite detectar infecciones mixtas o únicas como cervicitis bacteriana en secreciones vaginales.

En casos de infecciones por Clamidia de debe obtener con un cytobrush; para cultivarla se transporta en medios especiales y a temperatura de refrigeración. Para el caso del gonococo es aconsejable el inmediato cultivo en los medios selectivos. Los exámenes en fresco permiten la visualización de *Trichomonas vaginalis*, parásito sensible al cambio de temperatura por lo tanto la muestra

vaginal debe ser enviada pronto al laboratorio a temperatura ambiente o si se retarda la lectura a 37°C.

Muestras Fecales

Para establecer el diagnóstico etiológico de las diarreas, las heces constituyen una muestra de selección siempre y cuando se procesen lo más pronto posible. Especialmente en los niños, se debe evitar el contacto de las heces con orina, porque ello proporciona cambios de pH y dilución que afecta notablemente la muestra.

Para el coprocultivo se recomienda la técnica de hisopado rectal que facilita la recuperación de ciertas bacterias (p.ej. *Shigella* sp.) susceptibles al frío, cambios de pH y desecación.

La cantidad de heces que se requiere para el coprológico es muy pequeña y recién emitida permite la detección de ciertos parásitos en su fase activa, si su proceso se demora, las muestras se deben depositar en frascos con conservantes. El frío (3 - 5 °C) sólo permite viabilidad de las formas infectantes de los parásitos, pero ante todo se sugiere evitar la desecación de las muestras.

Detección de anaerobios

Las muestras en las que se sospecha presencia de este tipo de bacterias, se obtienen por aspiración con aguja y jeringa, de la cual debe expulsarse el aire, taparse la aguja con un tapón de caucho, enviarse al laboratorio rápidamente y a temperatura ambiente. No es correcto el uso de HISOPOS para la recolección de este tipo de muestras, por la fuerte exposición de los anaerobios al efecto deletéreo del oxígeno y de la desecación.

Líquidos Estériles

El líquido cefalorraquídeo (LCR) se obtiene generalmente por punción lumbar y por aspiración percutánea se obtienen los líquidos sinovial, pleural pericárdico y peritoneal. En estos casos la técnica aséptica juega un papel trascendental para evitar la contaminación de la muestra y la introducción de microorganismos a los espacios anatómicos.

El LCR se recoge en tres frascos estériles, uno para estudio microbiológico y los otros dos para estudio citológico y bioquímico. El volumen es crítico y en ningún caso la muestra se debe refrigerar excepto para estudios virales. En cuanto a los otros líquidos cabe recordar que en estos espacios infectados, suelen encontrarse bacterias anaerobias. Debe obtenerse la mayor cantidad posible y evitar la formación de coágulos que encierran las bacterias agregando heparina.

Heridas, Abscesos y Biopsias

El material clínico de heridas infectadas se puede recolectar por hisopos, previa limpieza superficial para eliminar conta-

piado para obtener muestras de abscesos, lesiones vesiculares o pústulas es la aspiración.

Cuando se presentan lesiones en piel y mucosas que no muestran material supurativo, la mejor manera de tomar una muestra representativa es realizando una biopsia del tejido comprometido, con la estricta indicación de enviarlo al laboratorio sin formol.

Otras Muestras

Para el cultivo de catéteres, se deben obtener con estricta técnica aséptica y enviarse para su estudio en tubos estériles; si hay evidencia de secreción purulenta a nivel de la salida del catéter se envía pus para cultivo.

Concomitantemente, se recomienda tomar hemocultivo para facilitar el diagnóstico de infecciones asociadas a catéteres. En términos generales, las muestras para aislamientos de virus se transportan refrigeradas si van a demorarse más de 24 horas para su estudio, o si es posible a -70°C y deben obtenerse en etapas tempranas de la fase aguda para mayor recuperación de estos organismos.

Raspados de piel, uñas o fragmentos de pelo para aislamiento de hongos pueden ser mantenidas a temperatura ambiente antes de su inoculación; especialmente en lesiones en piel cabe recordar que las muestras se deben obtener de los bordes porque allí hay mayor desarrollo fúngico.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Mandell, Gerarld.** Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. 4 Edición. Buenos aires: Editorial Médica Panamericana; 1997. Pgs 189 - 205.
2. **Schaechter, Moselio.** Microbiología. Mecanismos de las enfermedades infecciosas. Editorial Mosby/Doyma. Estudio y enfoque mediante resolución de problemas. 2 Ed. Buenos aires. Editorial Panamericana; Pgs 36 - 46.
3. **Koneman, Elmer.** Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas color. 5 Ed. Editorial Panamericana, 1999; Pgs 121 - 169.
4. Guía de autoformación en Enfermedades Infecciosas. Editorial Médica Panamericana; 1996, Pgs 208 - 213; 378 - 388.
5. **Arango M y Castañeda E.** Micosis Humanas. Procedimientos diagnósticos. Exámenes directos. Editorial CIB e INS 1995. Pgs 15 - 33.
6. **García Rodríguez J.A, Arce J.J, Muñoz J.L.** Infecciones por anaerobios 100 años después. Salamanca: Editorial García Rodríguez; 1994. Pgs 145 - 156.
7. **Iseberg H.D.** Clinical microbiology procedures handbook. Washington: American Society for Microbiology; 1995. Pgs 1.1.9 - 1.1.12
8. **Sánchez M.P.** Manual de procedimientos en bacteriología clínica. 3 Ed. Santafé de Bogotá: Editorial Presencia; 1992. Pgs 19 - 32, 175 - 222.
9. **Sussman O.A, Gómez M.E y Quevedo R.** Manual de toma de muestras para microbiología. Santafé de Bogotá: Instituto Nacional de cancerología; 1992. Pgs 1 - 42.
10. **Cure Ruiz, N.** Técnica para el cultivo de catéteres intravasculares. Revista de infectología de la Clínica San Pedro Claver. 1995; N°2, Pgs 9 - 10.
11. **Schleupner, Ch,J.** Infecciones del tracto urinario. Separando los sexos y las edades. Medicina de Posgrado 1997; Vol 4 123 - 132..
12. **Delgado A, Polanco AM, Prieto S, Amich S, Salve ML.** Laboratorio Clínico. Microbiología. 1 Ed. España: Editorial McGrawHill Interamericana; 1994. Pgs 32 - 47.