



HOSPITAL SANTIAGO
ORIENTE
Dr. LUIS TISNÉ BROUSSE
IH y EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA



MANUAL TOMA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS

**HOSPITAL SANTIAGO ORIENTE
“Dr. Luis Tisné Brousse”**

AÑO 2004

MANUAL TOMA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS

Esta guía de práctica clínica ha sido actualizada en base a la norma "Toma de muestras microbiológicas" Resolución exenta N° 150 del 19 de Noviembre año 2002.

Participaron en su elaboración:

CYNTHIA ARGÜELLO

Médico de IIH

Presidente Comité Ejecutivo de Calidad y Epidemiología Hospitalaria

ANA MARIA DEMETRIO

Enfermera de IIH y Epidemiología hospitalaria

MARIANELA CHACÓN

Secretaria Comité Ejecutivo de Calidad y Epidemiología Hospitalaria

Próxima revisión del documento: Año 2006

TOMA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS

INTRODUCCION

El objetivo fundamental de los estudios de cultivos microbiológicos, ha sido aislar el o los agentes etiológicos de una probable infección con el fin de apoyar al médico clínico en la confirmación diagnóstica y orientar el uso racional de antimicrobianos en el tratamiento del paciente. En la actualidad, con el desarrollo de los sistemas de vigilancia para las Infecciones Intrahospitalarias (IIH), se ha establecido un objetivo adicional, cuál es apoyar en el criterio de notificación de la IIH cuando la definición requiere de identificación etiológica. Por otra parte, un paso fundamental en cualquier diagnóstico etiológico, es la elección de una muestra apropiada.

El presente manual tiene el propósito de contribuir a la eficiencia diagnóstica a través de toma de muestra y métodos diagnósticos microbiológicos de calidad. Por este motivo es necesario recordar que estos agentes microscópicos se desarrollan y multiplican en un hábitat específico del huésped y que al retirarlos de su ambiente habitual rápidamente pierden su viabilidad.

A fin de evitar la pérdida de viabilidad y obtener el máximo de rendimiento de los exámenes microbiológicos se debe acortar al mínimo el tiempo que media entre la extracción de la muestra y su posterior siembra en el medio específico del Laboratorio

Las principales causas del bajo rendimiento de los cultivos se relacionan con:

- Caída del Ph
- Caída de la temperatura
- Desecación

Teniendo presente los factores anteriormente mencionados, las muestras tomadas con tórula seca o los cultivos de pus o muestras de algunos fluidos que requieren refrigeración y en que no se cumple esta indicación son inadecuadas, sólo hacen incurrir en gasto de tiempo y dinero a la institución.

Por otra parte para que las muestras resulten útiles en el diagnóstico y tratamiento de la infección, deben ser relevantes (es decir representativas del proceso infeccioso), de buena calidad y en cantidad adecuada. En la tabla I se citan muestras importantes de diversas zonas del cuerpo y tipos de infección.

Tabla I
MUESTRAS DE DIVERSAS ZONAS DEL CUERPO Y TIPOS DE INFECCIÓN

Zona/tipo de infección	Tipo de muestra			
	Líquidos corporales	Tejidos	Torunda	Otras
Tracto Urinario				
Vejiga	Orina			
Riñón	Orina	Biopsia renal		
Tracto gastrointestinal				
Intestino			Torunda rectal	heces
Boca	Lavados			
Hígado		Biopsia hepática		
Vías biliares	Bilis			
Abdomen	Aspirado peritoneal Líquido ascítico			
Vías respiratorias				
nariz			Torunda nasal	
nasofaringe			Torunda pernasal	
garganta	Lavados (V)			
pulmón	Espuito Lavado alveolar	Biopsia pulmón		
Espacio pleural	Líquido pleural			
Oído			Torunda ótica	
Ojo			Torunda conjuntival	
Sist. Nervioso Central				
meninges	Líquido cefalorraquídeo			
Encefalitis (herpes)		Biopsia cerebral		
Absceso cerebral	Líquido cefalorraquídeo			
Tracto genital				
Uretra			Torunda rectal	
Vagina			Torunda vaginal	
Cerviz			Torunda cervical	
Endometrio		Biopsia endometrio		
Piel y tejidos blandos				
Piel	Líquido vesícula (V)	Biopsia cutánea(M) Raspado (F)	Torunda cutánea	
Heridas			Torunda de exudado	
Hueso y articulación				
Osteomielitis	Pus	Biopsia hueso (*)		
Articulación	Aspirado			
Septicemia	Sangre			
Fiebre desconocida	Sangre			
endocarditis	Sangre	Válvula cardiaca (*)		

(*) Recogida en quirófano (V) muestra para virología (F) muestra para hongos (M) muestra para mico bacterias

Los tipos de estudio sea bacteriológico o micológico comprende los siguiente: el examen directo, el cultivo y cuando se justifica, el antibiograma.

Examen directo: significa la observación microscópica de la muestra extendida en un portaobjeto, que puede ser al fresco o con tinción (Gram, Ziehl – Neelsen, Tinta China). Este procedimiento es rápido alrededor de 10 minutos.

Cultivo: es el crecimiento invitro de microorganismos en medios de cultivos líquidos o sólidos (agares diferentes). Permite el aislamiento del agente y su identificación posterior; también comprende el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Este procedimiento es más lento demora al menos 24 horas y en casos de algunos microorganismos de lento desarrollo puede demorar varios días o semanas.

TIPO DE MUESTRAS MÁS FRECUENTES

Secreciones:	Frotar con tórula humedecida e introducir en medio de transporte de Stuart o Amies (tubo con medio de transporte tapa azul)
Deposiciones:	Introducir tórula humedecida en la zona más alterada de las deposiciones recién emitidas e introducir en medio transporte Cary Blair (tubo con medio de transporte tapa roja)
Sangre:	Hemocultivos tomados por punción con Técnica aséptica e inoculación inmediata en botella de hemocultivo.
Otros fluidos:	Tomar alrededor de 2ml con Técnica Aséptica y transporte en tubo estéril
Punciones:	Tomar con Técnica Aséptica y enviar alrededor de 2ml en la misma jeringa.
Anaerobios:	Tomar con Técnica aséptica 10 ml en jeringa, sellar y enviar al laboratorio (en medio de transporte para anaerobios)

El traslado al Laboratorio para su siembra debe hacerse de manera tal que los microorganismos no reconozcan haber sido retirados de su hábitat habitual; por esta razón se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones generales

- La toma de muestra para cultivo debe realizarse utilizando material estéril, tomadas por frotación, por punción o aspiración
- Las muestras óptimas para cultivo son las de fluidos o trocitos de tejidos

- Las muestras tomadas con tórula deben ser humedecidas con suero o agua estéril
- Para el traslado al laboratorio en general, luego de tomada la muestra deben introducirse en medio de transporte específico de acuerdo al tipo de muestra
- La hora de extracción de la muestra puede ser cualquier momento del día a excepción de orina y secreciones respiratorias que si son de rutina, deben ser tomadas a primera hora de la mañana
- Tomada la muestra, esta debe transportarse hasta el laboratorio a temperatura ambiente a excepción de orina y secreciones respiratorias las que deben mantenerse y trasladarse al laboratorio para su siembra a 4° C

INFECCION DEL TORRENTE SANGUINEO (ITS)

(Bacteremias, fungemias, sepsis)

HEMOCULTIVOS.

En adulto obtener al menos dos muestras (idealmente tres) de sangre de 10 ml cada muestra y en RN dos muestras entre 1 a 2 ml de acuerdo al peso. Con relación a los intervalos no existe consenso, sin embargo se recomienda 30 minutos entre cada extracción y en lo posible extraer de diferentes sitios anatómicos.

La técnica debe ser practicada por personal entrenado, previo lavado clínico de manos y antisepsia de la piel con alcohol 70%.

Introducir las muestras en los frascos especialmente destinados para ello, mezclar suavemente con el caldo para evitar coagulación y transportarlas al laboratorio a temperatura ambiente.

Frente a la fuerte sospecha de ITS primaria a Catéter Venoso Central (CVC), éste debe ser retirado de inmediato. Enviar 5 centímetros del extremo distal del CVC en tubo estéril seco para Técnica de Maki o Método semicuantitativo y simultáneamente extraer muestras para estudio de hemocultivos convencionales tomados por punción de venas periféricas y enviar ambas muestras al laboratorio.

Si el CVC eventualmente no puede ser retirado o existen razonables dudas del probable foco infeccioso, extraer 1 cc de sangre con jeringa heparinizada a través del CVC y simultáneamente 1 cc de sangre por vía periférica. Ambas muestras enviarlas de inmediato al laboratorio en sus respectivas jeringas para método cuantitativo.

Sospecha de ENDOCARDITIS, tomar seis muestras en series de a tres por dos días consecutivos. La cantidad de sangre debe ser al menos 20 ml. Solicitar previamente al laboratorio los medios de cultivos especialmente enriquecidos.

COMENTARIO.

Las muestras para hemocultivos deben extraerse antes de la terapia antibiótica. La presencia de fiebre no es requisito indispensable para la toma de muestra. Si existe fiebre las muestras deben tomarse antecediendo al peak febril. Para estudio de **anaerobio**, se procede de igual forma, excepto que las muestras se vacían al medio de cultivo puncionando a través de los tapones de los frascos solicitados Previamente al laboratorio.

LOS CULTIVOS RUTINARIOS DE PUNTA DE CATÉTERES, POR SI SOLO NO SON PREDICTIVOS DE ITS, ESTA PRÁCTICA SÓLO CONSUME TIEMPO Y DINERO A LA ORGANIZACIÓN

INFECCION TRACTO URINARIO (ITU) (Orina, secreción uretral y prostática)

UROCULTIVOS

Muestra Miccional: Realizar aseo perineal prolijo, separando los labios en la mujer y retrayendo el prepucio en el varón durante el procedimiento. Eliminar el primer chorro de orina, a fin de arrastrar mecánicamente la flora externa del tracto genitourinario.

Recibir 2 a 3 ml del segundo chorro en receptáculo estéril y sin interrumpir la micción. Tener presente de poner un tapón vaginal en la mujer a fin de evitar contaminación con la flora vaginal.

Con el objeto de no alterar el recuento bacteriano la muestra debe ser sembrada dentro de las primeras dos horas de tomada. Debe mantenerse refrigerada a 4° C y trasladarla manteniendo la cadena de frío.

Muestra por punción de catéter urinario: Desinfectar el sitio de punción del segmento proximal del catéter con alcohol 70%, aspirar con jeringa estéril entre 2 a 5 ml de orina, vaciar en tubo estéril y transportarla al laboratorio de la misma forma que la muestra miccional.

Muestras por punción suprapúbica: Antisepsia de la piel en el sitio de punción, aspirar con técnica aséptica entre 2 a 5 ml de orina y proceder a su traslado al laboratorio de igual forma que los casos anteriores.

Secreción uretral: Previo aseo genital, exprimir uretra y recibir la secreción en tórula estéril, colocar en medio de transporte y enviar a estudio. La muestra debe tomarse a primera hora de la mañana o después de una hora de orinar.

Secreción prostática:

Se procede de igual forma que en el caso de muestra para secreción uretral, previo masaje prostático

COMENTARIO

Se recomienda tomar las muestras de orina a primera hora de la mañana o después de tres horas sin orinar. Si se requieren cultivos de anaerobios la muestra se debe tomar por punción suprapúbica

Los cultivos de orina deben obedecer a un objetivo clínico o epidemiológico, sea para tratar al paciente o notificar la infección. Los cultivos rutinarios o en períodos preestablecidos no son predictivos de infección.

INFECCION RESPIRATORIA INFERIOR (IRI) (Neumonía, TBC y otras virales)

TOMA DE MUESTRAS NO INVASIVAS

Previo a la toma de muestra, realizar aseo bucal y posterior a tos voluntaria profunda recoger la muestra en receptáculos estériles o placa de Petri, Enviar de inmediato al laboratorio, si no es posible mantenerla refrigerada transitoriamente a 4° C por no más de dos horas. Es recomendable facilitar la expectoración con kinesiterapia respiratoria o drenaje postural. En pacientes intubados realizar la aspiración endotraqueal con sonda estéril y técnica aséptica, introducirla evitando su contaminación con gérmenes exógenos y aspirar depositando el contenido en tubo estéril para su estudio que puede ser cualitativo o cuantitativo. Este último tiene mejor perfil de especificidad, por cuanto se debe de rigor al momento de realizar el diagnóstico etiológico en pacientes conectados a ventilación mecánica.

TOMA DE MUESTRAS INVASIVAS

Cuando se trata de identificar el agente etiológico de neumonía nosocomial, las muestras que tienen mejor rendimiento; pero también mayores riesgos para el

paciente, son aquellas tomadas por bronoscopías (lavado broncoalveolar, aspirado telescopado protegido), Toracocentesis y Biopsia.

Lavado bronqueoalveolar: Realizar el procedimiento a través de broncoscopía y con técnica aséptica aspirar entre 15 a 50 ml de lavado. Transportarlas de inmediato en tubo estéril al laboratorio para su estudio.

Aspirado telescopado protegido: Por broncoscopía introducir cepillo a través del catéter protegido frotar la zona alterada y enviar en tubo estéril de inmediato al laboratorio para estudio semicuantitativo. *

Toracocentesis: Realizar el procedimiento con técnica aséptica, aspirar 10 ml si es posible. Transportar de inmediato al laboratorio para su estudio.

Biopsia pulmonar: realizar el procedimiento con técnica aséptica, enviar un trocito de tejido en tubo estéril o en medio de transporte con caldo específico. Trasladar la muestra de inmediato para su estudio.

COMENTARIO

Para el estudio etiológico de neumonía nosocomial en paciente intubado, se considera apropiado los cultivos aspirado traqueal, siempre que se realice con técnicas cuantitativas

*Corte recomendado para cultivos cuantitativos en secreciones respiratorias para neumonía es:

Con recuento > 10 elevado a 6 UFC/ml en muestra por aspirado traqueal

Con recuento > 10 elevado a 3 UFC/ml en muestra por cepillado protegido

Con recuento > 10 elevado a 4 UFC/ml en muestra por lavado bronqueoalveolar

INFECCION RESPIRATORIA ALTA (IRA)

Secreción faríngea: Deprimir la lengua y frotar con tórula estéril amígdalas, pilares anteriores y pared posterior de la faringe. Colocar en el medio de transporte y enviar de inmediato al laboratorio, si no es posible la muestra se mantiene transitoriamente a temperatura ambiente.

Secreción nasal: Introducir tórula estéril más o menos 2,5 cms en mucosa nasal, rotar y colocar en medio de transporte. Enviar al laboratorio de inmediato o mantener la muestra transitoriamente a temperatura ambiente

COMENTARIO

En caso de IIH, este tipo de estudio se restringe a Brotes Epidémicos, en búsqueda de portación del agente causal del brote

INFECCION DE HERIDA OPERATORIA (IHO) (Superficial, profunda abscesos cerrados)

Infección superficial: son aquellas que comprometen dermis, epidermis y celular subcutáneo.

Infección profunda: son aquellas que incluyen fascia y músculo, pudiendo comprometer o no cavidades u órganos.

Toma de muestra superficial: Limpiar la herida con suero fisiológico o Ringer, frotar con tórula estéril el centro y los bordes internos de la superficie cruenta, colocar en medio de transporte y enviar al laboratorio para su siembra y estudio

Toma de muestra profunda: Limpiar la superficie cruenta con suero fisiológico o Ringer, tomar la muestra con tórula de la parte más profunda de la herida, colocar en medio de transporte y enviarla al laboratorio.

Si se sospecha anaerobios: Desinfectar con antisépticos la superficie y los bordes de la herida, aspirar de la zona profunda de la herida 0,5 ml de secreción y enviar en la misma jeringa sellada al laboratorio, teniendo la precaución de eliminar toda burbuja de aire de su interior.

Si no es posible aspirar material, introducir tórula en lo más profundo de la herida y colocarla en tioglicolato. De mayor rendimiento que lo anterior es tomar un trocito de tejido (6 mm) con pinza estéril y dejarlo caer en el tioglicolato o en suero fisiológico e incluso en tubo estéril sin ningún preservante.

Abscesos cerrados: Desinfectar el sitio de punción con antiséptico, aspirar material en lo posible 10 ml y vaciar a tubo estéril para enviar al laboratorio. Si se sospecha de anaerobios enviar en la misma jeringa sellada, eliminando todo el aire remanente.

COMENTARIO

Las muestras de pus tienen muy mal rendimiento, ya que el pH ácido de este material destruye rápidamente los microorganismos, siendo difícil su aislamiento posterior a la siembra.

En caso de otras heridas de piel no operatorias, proceder a la toma de muestras como si se tratara de una herida superficial y transportarlas de igual forma que éstas.

INFECCIONES SUPERFICIALES DE PIEL Y MUCOSAS

Secreción conjuntival: Limpiar la superficie externa del ojo con suero estéril, frotar con tórula humedecida el borde interno de la conjuntiva y colocarla en el medio de transporte para su envío al laboratorio.

Secreción ótica: Limpiar el canal auditivo con jabón antiséptico, tomar la muestra con tórula estéril y colocarla en el medio de transporte para su envío al laboratorio.

Secreción umbilical RN: Tomar muestra directa de la zona umbilical sin previa limpieza, colocar en medio de transporte y enviar al laboratorio.

COMENTARIO.

Las muestras tomadas por punción ocular u ótica deben ser enviadas en la misma jeringa o en caldo de cultivo tioglicolato.

INFECCIONES GINECO – OBSTETRICAS

Endocervix: Previo aseo genital, introducir tórula hacia el canal cervical y rotar, colocar la tórula en medio de transporte y enviar al laboratorio. Si se sospecha de *Neisseria gonorrhoeae* (gonococo), inocular en placa de Thayer Martin en Z la que debe ser solicitada previamente al laboratorio para su siembra inmediata. Enviar al laboratorio en receptáculo con una fuente que consuma oxígeno.

Endometritis: A través de espéculo y previo aseo genital, aspirar muestra con jeringa con catéter protegido. Enviar de inmediato en la misma jeringa tapada o dejar caer el exudado en tioglicolato. NO REFRIGERAR.

Douglas: Aspirar por punción del fondo de saco vaginal previo aseo genital. Enviar en la misma jeringa tapada como para estudio de anaerobios.

Secreciones vaginales: Para estudio bacteriológico y de hongos. A través de un espéculo frotar con tórula estéril la mucosa vaginal e impregnarla de flujo de los fondos de saco, colocar en medio de transporte y enviar al laboratorio. Para Trichomonas, introducir suero fisiológico tibio, recoger y vaciar en tubo estéril de 3 a 5 ml. Enviar de inmediato al laboratorio.

Líquido Amniótico: Obtener por punción, previa desinfección con antiséptico y enviar al laboratorio en la misma jeringa o en tubo estéril entre 5 a 10 ml de muestra.

Placenta y tejidos fetales: Durante el acto quirúrgico, obtener tejido o aspirados. Enviar en tubo estéril o caldo tioglicolato como para estudio de anaerobios.

Trompas y ovarios: Obtener muestra durante la cirugía y enviar tejido o aspirado de la misma forma que para estudio de anaerobios.

COMENTARIO

En caso de Endometritis Puerperal, los cultivos microbiológicos no son necesarios para su notificación ya que es suficiente el criterio clínico, por otra parte la etiología es polimicrobiana y predecible.

En caso de brotes de endometritis puerperal, los cultivos se realizan a fin de detectar *Streptococcus beta hemolítico grupo A* u otro agente no habitual.

INFECCION GASTRO INTESTINAL (IGI)

Coprocultivos

Introducir tórula limpia en la zona más alterada de las deposiciones recién emitidas (mucus o sangre) y colocarlas en el medio de transporte (tubo tapa roja). Las muestras pueden tomarse directamente del recto, del pañal o receptáculo limpio.

Para leucocitos fecales: Enviar deposiciones frescas en tubo limpio y seco sin medio de transporte. Las muestras tomadas por rectoscopia o colonoscopías tienen mayor rendimiento, por cuanto de ser posible es recomendable obtener las muestras de esta forma.

Para *Clostridium difficile*: Enviar 5 a 10 ml de deposiciones recién emitidas en tubo o frasco limpio y seco.

Aspirado gástrico en RN

Aspirar por sonda nasogástrica de 1 a 3 ml de contenido y colocar en tubo estéril. Sólo se justifica esta muestra en las primeras 24 horas de vida.

Bilis

Aspirar entre 5 a 10 ml de bilis y enviar en la misma jeringa o en tubo estéril de inmediato al laboratorio.

MUESTRAS DE FLUIDOS Y CAVIDADES NORMALMENTE ESTERILES

Líquido cefalorraquídeo

Previa desinfección de la zona con antiséptico y con técnica aséptica, obtener entre 2 a 3 ml de muestra y en tubo estéril enviar de inmediato al laboratorio, si no es posible enviarla al momento, transitoriamente debe mantenerse a temperatura ambiente. NO REFRIGERAR.

Líquido ascítico

Aspirar idealmente 10 ml de muestra a través de punción abdominal con técnica aséptica, vaciar a frasco de hemocultivo y simultáneamente 1 ml en tubo estéril seco para tinción en laboratorio.

Lecha Materna

Limpia el pezón previo a extracción de la muestra, descartar los primeros ml y recoger entre 2 a 5 ml en tubo estéril. Enviar de inmediato al laboratorio.

MUESTRAS PARA ESTUDIO DE HONGOS

(Secreciones, fluidos, hemocultivos)

Obtener las muestras al igual que para estudios bacteriológicos; pero en expectoración y hemocultivos, deben enviarse seis muestras para estudio.

Lesiones piel lampiña: Obtener escamas por raspado con bisturí o portaobjeto de los bordes activos de la lesión.

Cuero cabelludo: Extraer con pinzas depilatorias cabellos afectados junto con escamas a través de bisturí o portaobjeto.

Uñas: Recoger detritus depositado bajo las uñas y posteriormente proceder a cortar las uñas con tijeras.

OTRAS MUESTRAS MISELANEAS

Tejidos: Obtener muestras por aspiración o por biopsia, dejar caer en caldo tioglicolato o suero fisiológico estéril.

Ganglios: Obtener muestras por punción aspirativa o biopsia

RPR: tomar 10 ml de sangre en tubo estéril, vaciar lentamente en el medio de transporte para no producir hemólisis y enviar al laboratorio.

MUESTRAS DE SUPERFICIES AMBIENTALES Y DISPOSITIVOS CLÍNICOS

Este tipo de muestra tiene sólo dos razones que la justifican y son:

1.- Para control de calidad

Muestras aleatorias en Mezclas de Nutrición Parenteral
Monitoreo de autoclaves en esterilización
Conteo microbiológico de aguas y soluciones en hemodiálisis

2.- Para estudio de brotes epidémicos:

Estudio de portación y/o reservorio habitual del agente causal del brote

MUESTRAS NO DESEABLES PARA ESTUDIO

- **Por rendimiento cuestionable o sin rendimiento**
 - Descarga de colostomías
 - Escaras
 - Loquios
 - Vómitos
 - Ulceras varicosas
 - Aspirado gástrico en RN > de 24 horas
- **Por no ser predictivo de Infección**
 - Cultivo rutinario de superficies ambientales
 - Cultivo rutinario de artículos clínicos
 - Cultivos rutinarios de portadores

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Mc Gowan J.E. Metchock B.: Infection control epidemiology and clinical microbiology. 1995.
- 2.- Wenzel R. Prevention and Control of nosocomial Infection: Hospital acquired infection in intensive care unit patients. 1997
- 3.- Michael A. Pfaller M.D and Martin G. Cornican: Microbiology, The role of the Clinical Laboratory. 1997.
- 4.- Hospital del Salvador: Oficina Control IIH "Manual toma de Muestras Microbiológicas" 1998.
- 5.- Ministerio de salud Chile. "Manual Acreditación de Hospitales en IIH": Características requeridas del Laboratorio de Microbiología . Estandar VE 2.1, 2.2