

PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (número 1a, 2ª edición 2003)

Editores: Emilia Cencenado
ecercenado@teleline.es

y Rafael Cantón
rcanton.hrc@salud.madrid.org

Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología

Coordinador: *Sánchez Carrillo C^a*

El primer paso en el diagnóstico microbiológico es la obtención de la muestra clínica adecuada que debe ser representativa del proceso infeccioso que se pretende diagnosticar. La información clínica recibida así como una estrecha comunicación entre el microbiólogo y el clínico responsable del paciente permite al laboratorio aplicar las técnicas diagnósticas disponibles de manera más eficiente. En este sentido, el laboratorio de microbiología debe poner a disposición de los clínicos toda la información necesaria sobre las posibilidades diagnósticas que el laboratorio ofrece. El propósito de este procedimiento es establecer las directrices para asegurar la calidad de la fase preanalítica en lo que afecta tanto a la recogida como al transporte de las muestras hasta la llegada al laboratorio de microbiología previo al procesamiento. Así mismo, se establecen las directrices del procesamiento inicial de la muestra una vez recibida en el laboratorio.

La idoneidad de las muestras enviadas depende del cumplimiento de una serie de medidas o reglas referentes a: procedimiento de obtención, cantidad enviada, conservación y transporte rápido y adecuado al laboratorio. Todas las normas y recomendaciones sobre estos aspectos se encuentran detalladas en el procedimiento. Por otra parte, y debido a que cada vez es más frecuente la realización de técnicas microbiológicas en lugares distantes al de la toma de muestra, se ha considerado necesario incluir en el procedimiento las guías y las legislaciones para el transporte de muestras por superficie y por vía aérea.

El laboratorio de microbiología debe determinar, una vez recibida la muestra, si cumple con los requisitos para ser procesada. Es necesario que cada laboratorio establezca y difunda a los servicios y facultativos peticionarios sus propios requisitos de la aceptación de una muestra para estudio microbiológico. En el procedimiento se describen detalladamente estos requisitos de aceptación/rechazo. El laboratorio de microbiología debe disponer también de un sistema de registro de las incidencias en el proceso de recepción de la muestra y en este procedimiento se pueden consultar los aspectos que se deben considerar en el sistema de registro de esas incidencias, así como las acciones

que ejecutar en las incidencias más frecuentes. Del mismo modo, se describen los tipos de procesamiento más generales de las muestras para exámenes microbiológicos, así como los medios de cultivo y reactivos recomendados para el procesamiento de muestras. También se detallan las medidas de control que deben tenerse en cuenta para asegurar que todos los factores que intervienen en este proceso estén dentro de los valores aceptados por los protocolos de trabajo (equipos habituales implicados –estufas, neveras, congeladores–; almacenaje de los materiales; calidad de los medios de cultivo que utiliza, etc.).

Por último, en el procedimiento se detallan aspectos relacionados con la expresión de resultados por parte de los laboratorios de microbiología, con las responsabilidades de cada parte del proceso y con algunas consideraciones sobre las normas generales de seguridad. Todos estos aspectos se pueden consultar en la página web www.seimc.org/protocolos/microbiologia (Procedimiento microbiológico SEIMC n.º 1ª “Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología”, 2ª edición 2003).

Guerrero C^b y Sánchez Carrillo C^a

Servicios de Microbiología.

^aHospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ^bHospital Morales Meseguer. Murcia. España.

PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (número 3a, 2ª edición 2003)

Editores: Emilia Cencenado
y Rafael Cantón

Hemocultivos

Coordinador: *Loza E^a*

La bacteriemia (o fungemia) se define como la presencia de bacterias (u hongos) en la sangre y se pone de manifiesto por el aislamiento de éstos en los hemocultivos. Esto permite, además, conocer su sensibilidad a los antimicrobianos e instaurar un tratamiento precoz o modificar un tratamiento empírico ya establecido. Los hemocultivos deben realizarse cuando existe sospecha clínica de sepsis, meningitis, osteomielitis, pielonefritis, infección intraabdominal, artritis, infecciones graves de la piel y tejidos blandos, neumonía aguda bacteriana, endocarditis y fiebre de origen desconocido (absceso oculto, fiebre tifoidea, brucelosis, tularemia, etc.), siempre antes de la administración del tratamiento antimicrobiano.

En este procedimiento se recogen las indicaciones para la extracción de hemocultivos y el lugar anatómico adecuado para ello. Así mismo, se indica la técnica más adecuada para su extracción y las normas de identificación y mantenimiento.

En la actualidad el método convencional (manual) de procesamiento de hemo-

cultivos ha sido sustituido por sistemas automáticos de monitorización continua basados en la detección de la producción de CO₂ por los microorganismos. Cuando el sistema alerta de la existencia de un hemocultivo positivo se debe realizar una tinción de Gram y un subcultivo en diferentes medios e informar telefónicamente de los resultados de la tinción al médico responsable del enfermo. Del mismo modo, se recomienda realizar un antibiograma directo del frasco del hemocultivo para obtener con la mayor celeridad datos presuntivos de sensibilidad a antimicrobianos. Tras el crecimiento de los microorganismos en los medios de cultivo se identificarán y se les realizarán las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos por los métodos estándares.

La distinción entre bacteriemia verdadera y falsa (la causada por la contaminación accidental con la flora cutánea del enfermo, de sistema de extracción, de los medios de cultivo, etc.) es de gran importancia para el paciente y difícil de establecer por el laboratorio. El número de hemocultivos contaminados no debe exceder del 3%. Existen microorganismos, a veces responsables de las llamadas endocarditis con hemocultivo negativo, que necesitan medios de cultivos especiales por sus requerimientos nutritivos y su incubación debe ser prolongada debido a su lento crecimiento. En este apartado se incluyen *Brucella*, *Haemophilus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella*, *Francisella*, *Leptospira*, *Bartonella*, *Leishmania*, *Abiotrophia*, bacterias deficitarias en pared, bacterias dependientes de antibióticos, micoplasmas, micobacterias, hongos y virus, al igual que entidades como endocarditis, bacteriemia asociada a catéter, etc. Todos estos aspectos, así como el correspondiente procedimiento normalizado de trabajo se desarrollan en el procedimiento microbiológico SEIMC número 3a: *Hemocultivos* (2ª edición 2003) (<http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/>).

*Loza E^a, Planes A^b
y Rodríguez Creixems M^c*

Servicios de Microbiología. ^aHospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

^bHospital Vall D'Hebron. Barcelona.
^cHospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (número 2a, 2ª edición 2004)

Editores: Emilia Cencenado
y Rafael Cantón

Serología de las hepatitis víricas

Coordinador: *Delgado Iribarren A^a*

La serología de las hepatitis víricas supone la principal carga del laboratorio de inmunomicrobiología e incluye

un grupo heterogéneo de virus que tienen en común el tropismo hepático. En este procedimiento se tratan de un modo especial aspectos sobre el diagnóstico de estas infecciones en todos los estadios posibles sin prescindir de la clínica y la epidemiología, pues su conocimiento es de interés para establecer un diagnóstico correcto. El uso de vacunas eficaces e inocuas para los virus de la hepatitis A (VHA) y B (VHB) está cambiando el patrón epidemiológico de estos virus, incluyendo el del virus de la hepatitis D (VHD). Por otra parte, las terapias antivirales para las hepatitis B y C crónicas son ya una realidad de la que se benefician miles de pacientes en nuestro sistema sanitario, entre los que destacan los pacientes coinfectados por el VIH. Por todo ello resulta del mayor interés el establecer un diagnóstico exacto del tipo de infección vírica y del estadio de la enfermedad que permita tomar decisiones terapéuticas adecuadas y establecer medidas preventivas necesarias en la comunidad. Los avances en este campo, con el mejor conocimiento de los marcadores virales (productos del virus o anticuerpos específicos) y sobre todo en técnicas de microbiología molecular, han permitido en los últimos años un diagnóstico y seguimiento más preciso de estas infecciones.

En el documento científico de este procedimiento se revisan los motivos que llevan a solicitar este diagnóstico y se abordan aspectos clínicos de los virus de las hepatitis A, B, C, D y E y de agentes que actualmente no se consideran relevantes como el virus TT y el virus de la hepatitis G. También se analiza a fondo el diagnóstico serológico para cada virus, comenzando con la obtención, transporte y conservación de muestras seguido de un estudio exhaustivo de los marcadores disponibles y su potencial utilidad. De especial interés son los criterios para la interpretación de los resultados agrupados en función del diagnóstico solicitado. Los más frecuentes son: *a*) hepatitis aguda: marcadores de rutina y en caso de hepatitis aguda no A no B no C con sus criterios generales de interpretación y los particulares de los pacientes usuarios de drogas por vía parenteral; *b*) hepatitis crónica: marcadores de rutina y sus criterios de interpretación; y *c*) seguimiento de tratamientos: pueden variar en función del genotipo, como ocurre en la hepatitis C, o la muestra por analizar (muestra basal o seguimiento).

El documento científico también expone en profundidad la interpretación de patrones atípicos para marcadores de infección por el VHB, entre los que destaca la reactividad aislada para anti-HBc (ausencia de HBsAg y anti-HBs), la reactividad confirmada para

HBsAg en ausencia de anti-HBc total, la reactividad aislada para anti-HBs en individuos no vacunados y la coexistencia de HBsAg y anti-HBs. Así mismo, se analizan las posibles causas que pueden generar la aparición de estos perfiles. Finalmente se abordan los posibles procedimientos que realizar en situaciones especiales como son la transmisión vertical (VHB, VHC), los convivientes de pacientes con hepatitis aguda o crónica (VHA, VHB, VHC) y los donantes de sangre o de órganos (VHB, VHC). También se dedica un apartado a los grupos de riesgo (VHA, VHB, VHC, VHD) y a las medidas de prevención.

El laboratorio de inmunomicrobiología no ha de ser un mero emisor de datos cualitativos o cuantitativos de los ensayos realizados, sino que ha de emitir un informe que interprete el conjunto de los mismos, sobre todo cuando los resultados sean dudosos o atípicos, para lo cual es imprescindible conocer la situación clínica del paciente y escoger la explicación más plausible a la misma.

Todos los aspectos anteriores se detallan en el procedimiento microbiológico SEIMC número 2a: *Serología de las hepatitis víricas* (2ª edición 2004): (www.seimc.org/protocolos/microbiologia). Así mismo, a modo de procedimiento normalizado de trabajo, se recogen los métodos utilizados para el diagnóstico de hepatitis virales anteriormente expuestas. Este procedimiento normalizado también podría ser aplicable al resto de los ensayos empleados en el laboratorio de serología, si bien cada uno debe contener sus particularidades.

Delgado Iribarren A^a,

Echevarría JM^b y León P^b

^aServicio de Microbiología. Fundación Hospital Alcorcón. Madrid. ^bServicio de Microbiología Diagnóstica. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid. España.

PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (número 15, 2ª edición 2004)

Editores: Emilia CERCENADO
y RAFAEL CANTÓN

Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares

Coordinador: Pascual A^a

La utilización de catéteres intravasculares con fines diagnósticos o te-

rapéuticos es cada vez más frecuente. Las infecciones asociadas a catéteres constituyen actualmente la principal causa de bacteriemia nosocomial que está relacionada con una alta morbilidad y mortalidad. Existen numerosos tipos de catéteres, pero este procedimiento se centra en el diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con el uso de catéteres venosos centrales (CVC).

El procedimiento incluye un documento científico y otro técnico. En el primero se describen las definiciones de relevancia, los aspectos epidemiológicos más importantes, el origen de los microorganismos que producen estas infecciones y las vías de acceso del torrente circulatorio. Las recomendaciones en cuanto al diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a CVC están basadas en los acuerdos alcanzados en una conferencia de consenso entre la SEIMC y la SEMICYUC que se celebró en 2002. Se revisan en primer lugar los procedimientos diagnósticos que requieren la retirada del catéter y se establecen las recomendaciones específicas para el diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres utilizando esta metodología. Se incide en la importancia de potenciar el uso de técnicas conservadoras que permitan el mantenimiento del catéter. Se destaca el uso de cultivos superficiales de vigilancia, el cultivo cuantitativo de sangre aspirada por el catéter y las técnicas actuales basadas en la velocidad de crecimiento de hemocultivos cualitativos. Finalmente se establecen una serie de conclusiones basadas en la evidencia científica.

La segunda parte del documento recoge una serie de procedimientos normalizados de trabajo, adaptables a cualquier laboratorio de microbiología, sobre los cuatro métodos más relevantes para el diagnóstico de las infecciones asociadas a catéteres: técnica semicuantitativa de Maki, técnica cuantitativa de Brun-Buisson, los cultivos superficiales de piel y conexiones y el procesamiento de hemocultivos cuantitativos mediante la técnica de lisis-centrifugación.

El desarrollo de todos estos aspectos anteriormente mencionados se puede consultar en el procedimiento microbiológico SEIMC número 15: *Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares* (2ª edición 2004) (www.seimc.org/protocolos/microbiologia).

Bouza E^b, Liñares J^c y Pascual A^a

Servicios de Microbiología. ^aHospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. ^bHospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ^cHospital Universitario de Bellvitge. Hospital de Llobregat. Barcelona. España.