

Toma de Muestras Microbiológicas aseguramiento de calidad

T.M. Carlos Ivovic O

Profesor de Microbiología Clínica
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Pedro de Valdivia

Objetivos de la toma de muestras microbiológicas:

- **Aislar** el o los agentes etiológicos de una probable infección
- Apoyar al médico clínico en la **confirmación diagnóstica**
- Orientar el **uso racional de antimicrobianos** en el tratamiento del paciente
- Apoyar en el criterio de **notificación de la IH** cuando la definición requiere de identificación etiológica.



Pilares fundamentales

- Correcta elección de la muestra
- La muestra debe ser representativa del proceso infeccioso
- Las técnicas de muestreo deben ser estandarizadas
- Correcta aplicación de la técnica de muestreo



un paso fundamental en cualquier diagnóstico etiológico, es la elección de una muestra apropiada

“Muestra apropiada en el Momento apropiado”

Fase Pre- analítica:

factores que afectan a la calidad del resultado

- Formulario de toma de muestra
- Indicaciones preparación del paciente
- Información de entrega de resultados/Expectativas del paciente
- Toma de muestra
- Calidad de la muestra
- Identificación
- Conservación
- Transporte
- Recepción
- Con o sin sistema informático



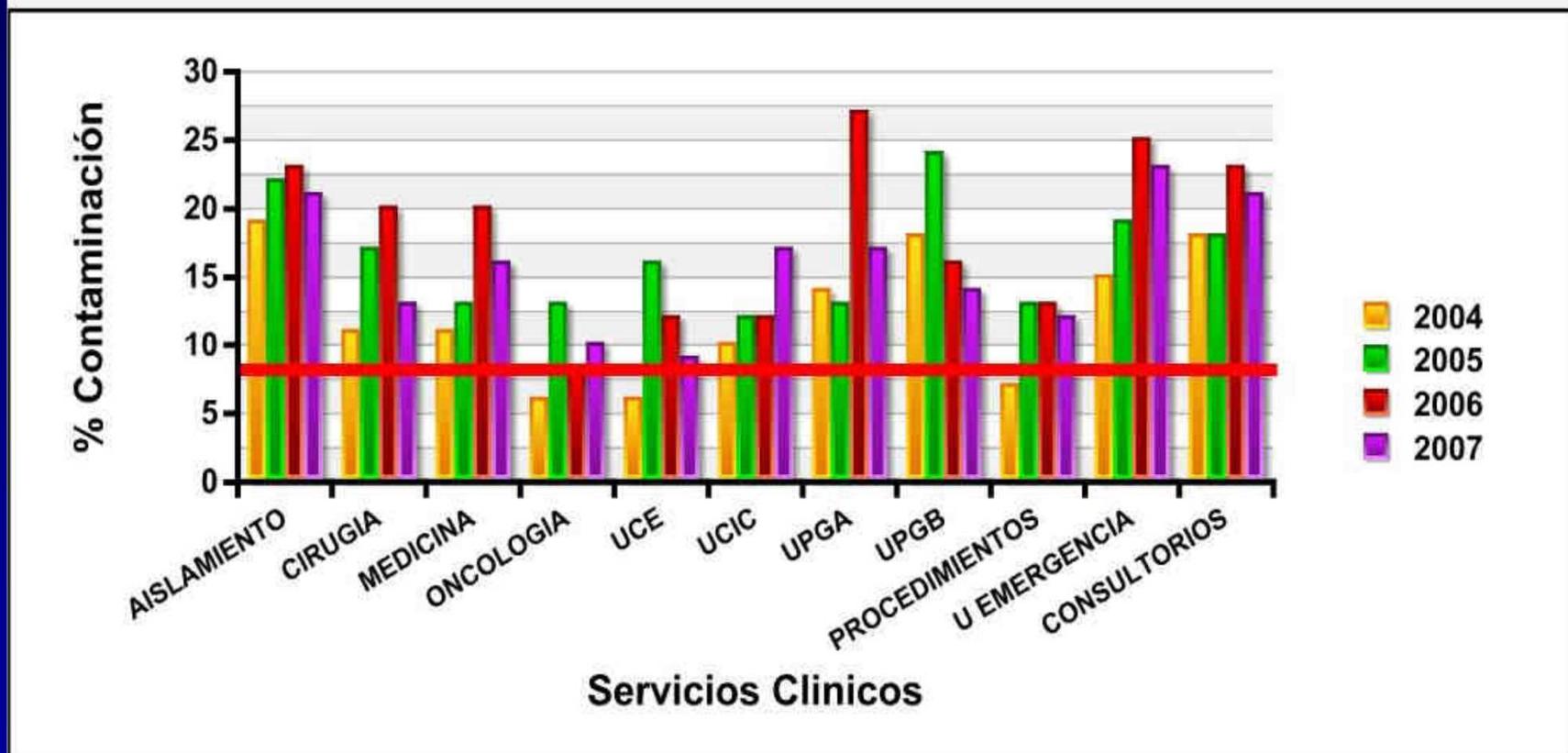
Fase pre analítica

Estandarización de procedimientos de muestreo:

- Manual de toma de muestra 
- Proceso de ingreso bien definido:
 - evitar la variabilidad
- Criterios de rechazo y aceptación
- Evaluación :
 - Indicadores de cumplimiento de normas

Indicadores de calidad y cumplimiento de normas

Urocultivos Contaminados 2004 - 2007



Estándar: < 8%

Fase pre analítica: estandarización del manejo de muestras



Criterios de rechazo de muestras

MUESTRAS EN LA RECEPCIÓN. Laboratorio Clínico Hospital Roberto Del Río. Página: 1 de 2	Fecha: 29 de agosto de 2007 Actualización: 2
RECHAZO DE MUESTRAS	
<p>Objetivo: Prevenir los posibles errores pre analítica generados por una inadecuada muestra.</p> <p>Procedimiento: Se rechazara toda muestra que no cumpla con las condiciones mínimas establecidas por el Laboratorio. Se establece criterios de rechazo absolutos y relativos:</p> <p>Rechazo absoluto: No coincidencia absoluta en la identificación de muestra con orden o tipo de muestra con solicitud de exámenes. La conducta a seguir es rechazo de muestra con formulario ANEXO 1. Se solicita nueva muestra de ser necesario.</p> <p>Rechazo relativo: Toda muestra que no sea rechazo absoluto y que técnicamente cumpla con los requisitos para el procesamiento. Requiere ser aceptada con previa autorización del profesional del Laboratorio.</p> <p>Requisitos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Toda muestra debe traer la orden de solicitud del examen lo contrario es motivo de rechazo absoluto ▪ Con respecto a la orden esta debetraer los siguientes datos obligatorios como: <ol style="list-style-type: none"> 1. Nombre completo (nombres y dos apellidos), Relativo si es con Cta. Que dado que nos permita rescatar los datos demográficos del sistema Anita. 2. Para consultorios se requiere el nombre completo (Punto 1) y el Rut de lo contrario es rechazo absoluto. 3. Firma o nombre de quien lo solicita. Rechazo relativo 4. Orden de examen con identificación clara de los exámenes solicitados, orden sin solicitud de exámenes es criterio de rechazo absoluto. 5. La identificación de la orden debe coincidir con la identificación de la muestra (s) Lo contrario es rechazo absoluto. ▪ Con respecto a la muestra esta debe venir: (Ver condiciones de la muestra en Manual de Toma de muestra o Manual técnico de recepción del Laboratorio). <ol style="list-style-type: none"> 1. En el correspondiente tubo o frasco, según manual de toma de muestra. Lo contrario es rechazo absoluto. 2. La cantidad de muestra debe ser la indicada en el Manual de Toma de Muestra. Lo contrario es rechazo absoluto. 3. El envase no debe estar derramado por fuera con muestra. Rechazo relativo 	

Nombre: INSTRUCTIVO RECHAZO DE MUESTRAS EN LA RECEPCIÓN. Laboratorio Clínico Hospital Roberto Del Río. Página: 2 de 2	Código: Lab. Uin / Fecha: 29 de agosto de 2007 Actualización: 2	
<ol style="list-style-type: none"> 4. La tipo de muestra debe corresponder con la orden de solicitud de exámenes. Lo contrario es rechazo absoluto. 5. El frasco, tubo o recipiente donde viene la muestra debe estar identificado con el nombre completo de paciente. Lo contrario es rechazo absoluto. 6. La orden o el tubo debe tener registro de fecha e idealmente la hora de toma de muestra. Rechazo relativo 7. Muestras coaguladas visiblemente deben ser recepcionadas e ingresadas al sistema informático, debe informar al estafeta y registrar en cuaderno o planilla del consultorio. Desde las secciones se deberá informartelefónicamente al servicio (técnico paramédico o enfermera). 8. Durante el periodo de calor, los consultorios periféricos deberán transportar las muestras en los cooler con unidades refrigerantes. Estas unidades si el consultorio no tienes la podrán solicitar en el Laboratorio. <p>Responsable: Oficial administrativo recepción, Secretaria, Supervisora Administrativa.</p> <p>Distribución: Recepción, Secciones del Laboratorio, Servicios clínicos y Consultorios periféricos.</p>		
Elaborado Por: T.M. Supervisor adm. Jerthy Valencia y Dra. Dona Benadof. Fecha: 29 de agosto de 2007 Firma:	Aprobado Por: T.M. Supervisor admin. Jerthy Valencia Fecha: 29 de agosto de 2007 Firma:	Director: Dra. María Morales Fecha: 29 de agosto de 2007 Firma:

**TODA MUESTRA MICROBIOLÓGICA
DEBE TOMARSE EN
CONDICIONES
ASÉPTICAS**



COMPONENTES DE LA TÉCNICA ASÉPTICA SON

- • Lavado de manos
- • Preparación de la piel previo procedimientos invasivos
- • Uso de barreras de alta eficiencia
- • Delimitación de áreas
- • Uso de antisépticos
- • Uso de material esterilizado o sometido desinfección de alto nivel (DAN)

Recordemos que.....

- Los agentes etiológicos microscópicos se desarrollan y multiplican en un hábitat específico del hospedero, y que al retirarlos de su ambiente habitual **rápidamente pierden su viabilidad.**
- Debemos reconocer las condiciones ambientales adversas que pueden influir en el bajo rendimiento de los cultivos

Viabilidad de los cultivos

- Se debe **acortar al mínimo el tiempo** que media entre la extracción de la muestra y su posterior siembra en el o los medios de cultivo.
- Pérdida de la viabilidad:
 - Caída del Ph.
 - Exposición a temperaturas extremas.
 - Deseccación.



Viabilidad de los cultivos

De acuerdo a lo anterior:

- Todas las muestras tomadas con tórula seca,
- o los cultivos de pus o muestras de algunos fluidos que requieran refrigeración,
- o en las que no se cumplen indicaciones específicas de resguardo,
- **SON INADECUADAS**



Recordemos que.....

Tomar y procesar muestras inadecuadas implica

- Pérdida de recursos,
- Retraso en el tratamiento,
- Riesgo de complicaciones del cuadro infeccioso
- Pérdida de la confianza

Tipo de muestras según sitio del proceso infeccioso

Localización de la infección	Líquidos corporales	Tejidos	Torunda	Otras
Tracto Urinario				
Vejiga	Orina			
Riñón	Orina	Biopsia renal		
Tracto gastrointestinal				
Intestino			Torunda rectal	heces
Boca	Lavados		Torunda faringea	
Hígado		Biopsia hepática		
Vías biliares	Bilis			
Abdomen	Aspirado peritoneal			
	Líquido ascítico			

Tipo de muestras según sitio del proceso infeccioso

Localización de la infección	Líquidos corporales	Tejidos	Torunda	Otras
Vías respiratorias				
nariz			Torunda nasal	
nasofaringe			Torunda pernasal	
garganta	Lavados (V)			
pulmón	Espuito	Biopsia pulmón		
	Lavado alveolar			
Espacio pleural	Líquido pleural			
Otras cavidades				
Oído			Torunda ótica	
Ojo			Torunda conjuntival	



Tipo de muestras según sitio del proceso infeccioso

Localización de la infección	Líquidos corporales	Tejidos	Torunda	Otras
Tracto genital				
Uretra			Torunda uretral	
Vagina			Torunda vaginal	
Cervix			Torunda cervical	
Endometrio		Biopsia endometrio		
Piel y tejidos anexos				
Piel	Líquido vesícula (V)	Biopsia cutánea (M)	Torunda cutánea	Raspado (F)
Pelo				Folículos
Uñas				Raspado (F)
Heridas			Torunda de exudado	



Tipo de muestras según sitio del proceso infeccioso

Localización de la infección	Líquidos corporales	Tejidos	Torunda	Otras
Hueso y articulaciones				
Osteomielitis	Pus	Biopsia hueso (*)		
Articulación	Aspirado			
Sistema Nervioso Central				
meninges	Líquido cefalorraquídeo			
Absceso cerebral	Líquido cefalorraquídeo			
Encefalitis (herpes)		Biopsia cerebral		
Sangre				
Septicemia	Sangre			catéter
Fiebre desconocida	Sangre			catéter
Otros procesos				
Endocarditis	Sangre	Válvula cardiaca (*)		

Análisis microbiológico

Estudios mínimos a realizar en toda muestra microbiológica:

- Examen directo (en fresco, o mediante tinción)
- Cultivos generales o específicos
- Antibiograma si corresponde



Análisis microbiológico

Examen directo (en fresco, o mediante tinción):

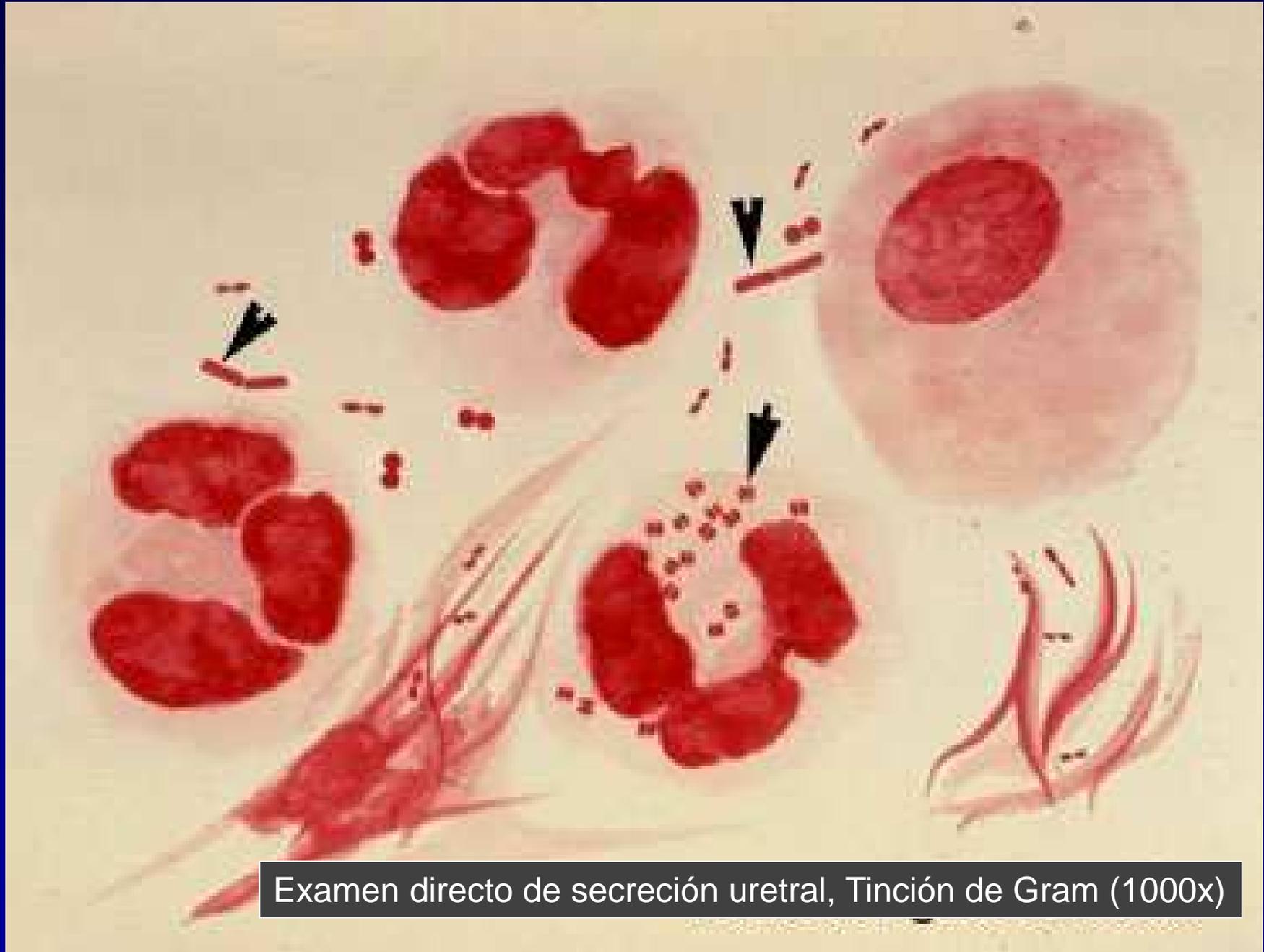
Observación microscópica de la muestra para buscar el agente infeccioso, sus partes, y la respuesta del hospedero

- Puede tener alto valor predictivo
- Puede tener carácter de urgencia
- Permite anticipar la instalación de terapias





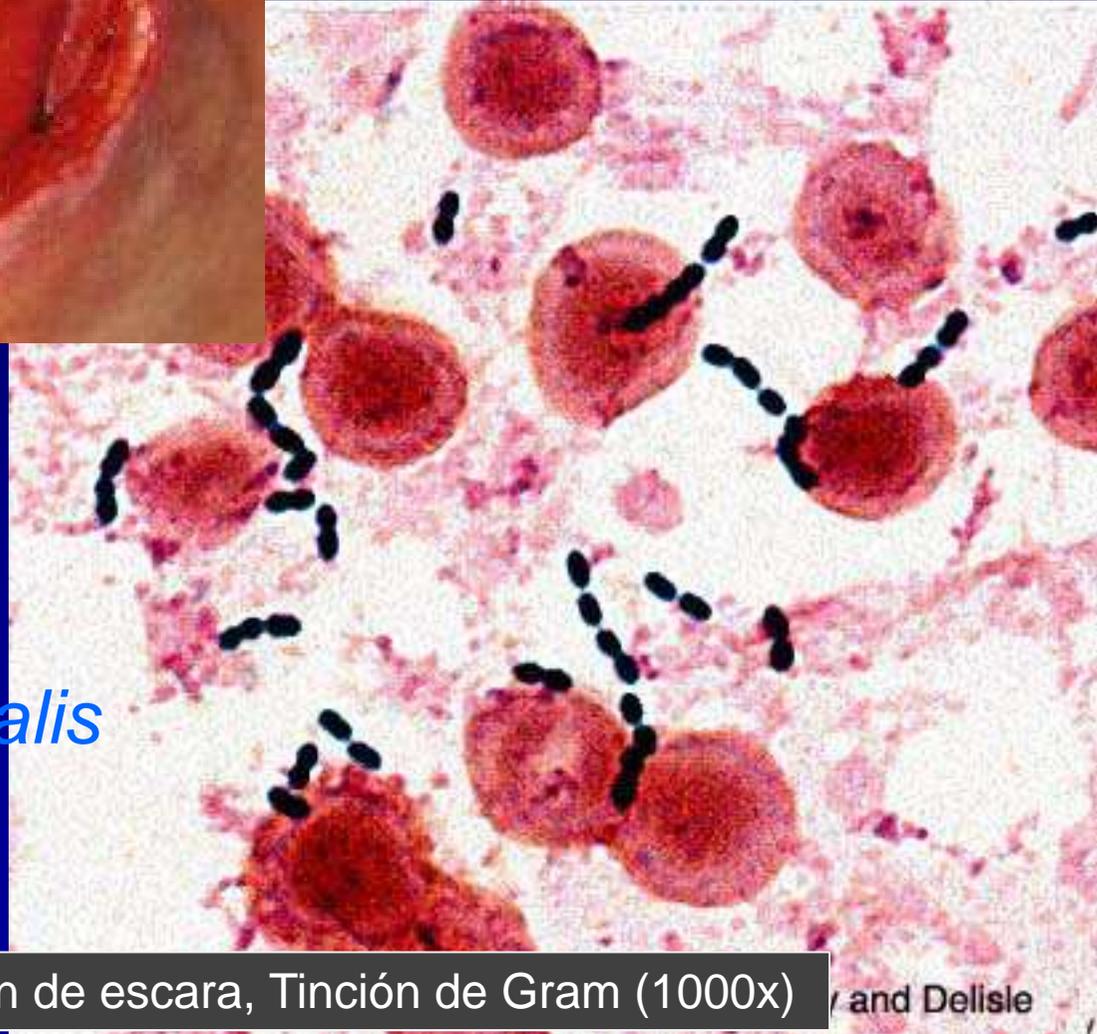
Examen directo de secreción faríngea, Tinción de Gram (1000x)



Examen directo de secreción uretral, Tinción de Gram (1000x)



Examen directo de secreción vaginal, Tinción de Gram (1000x)



Enterococcus faecalis

Examen directo de secreción de escara, Tinción de Gram (1000x) and Delisle

CATEDRA DE MICROBIOLOGÍA
Cocaceas Gram Positivas de Importancia Médica



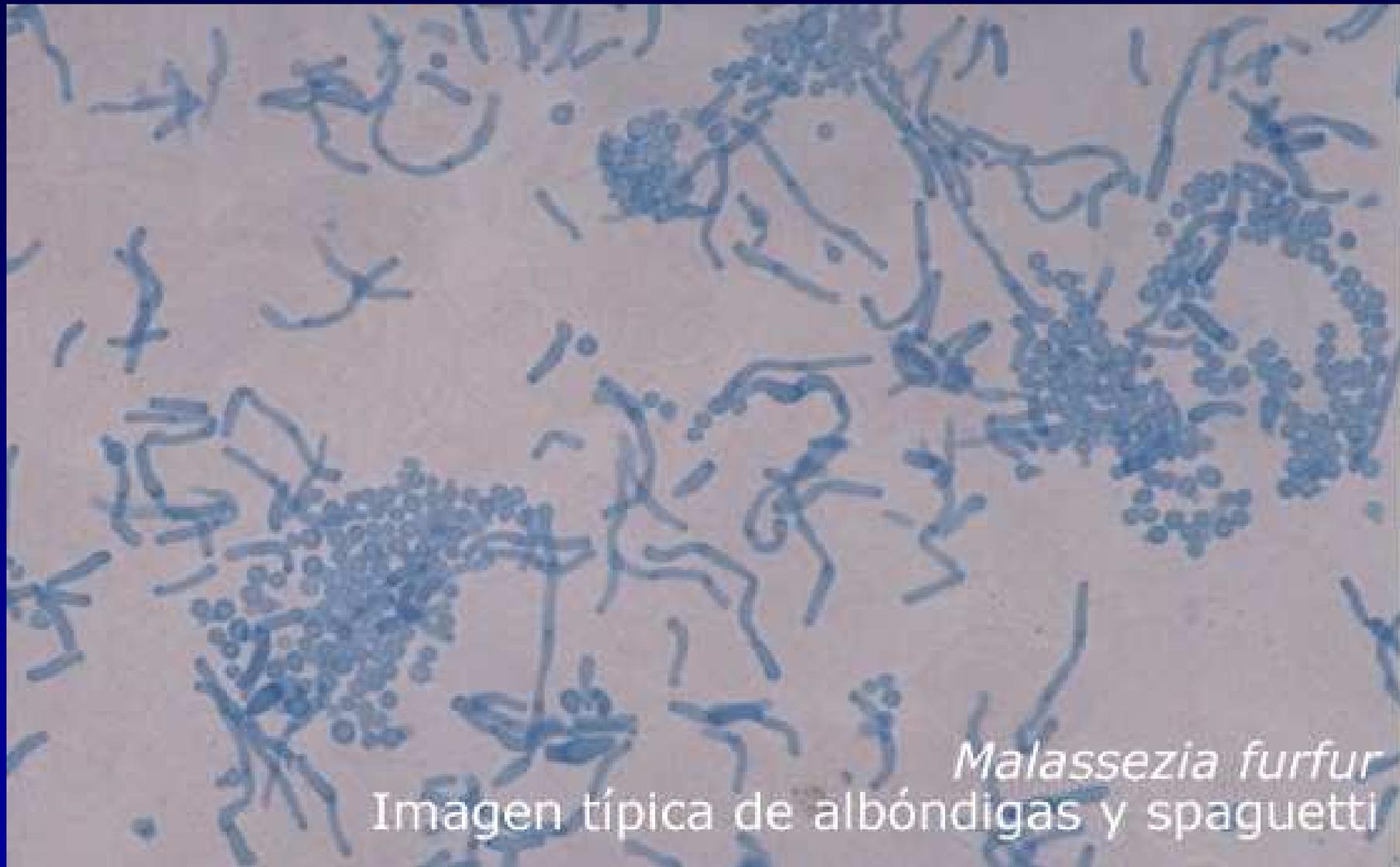
Signo de Nikolsky

Síndrome de piel escaldada

Examen directo de lesión cutánea, Tinción de Gram (1000x)



Micosis superficial: Pitiriasis versicolor



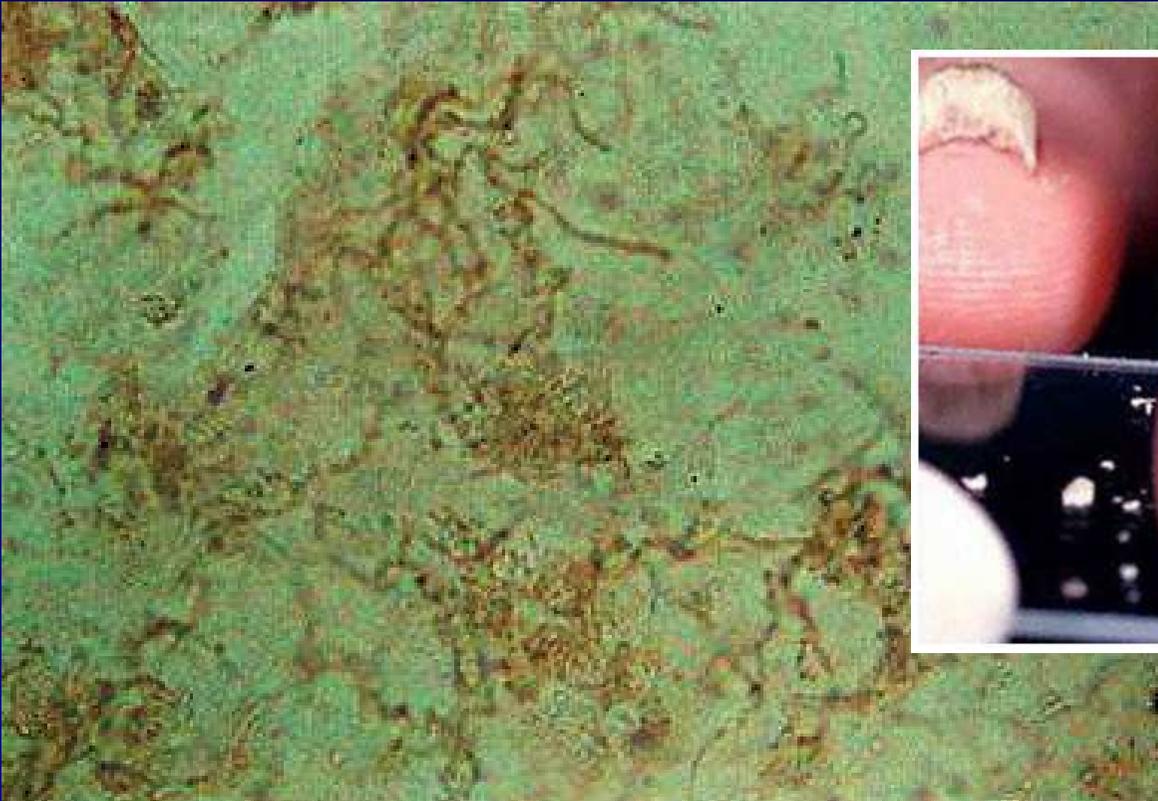
Malassezia furfur

Imagen típica de albóndigas y spaguetti

Examen directo de raspado cutáneo, Tinción de azul de metileno (1000x)

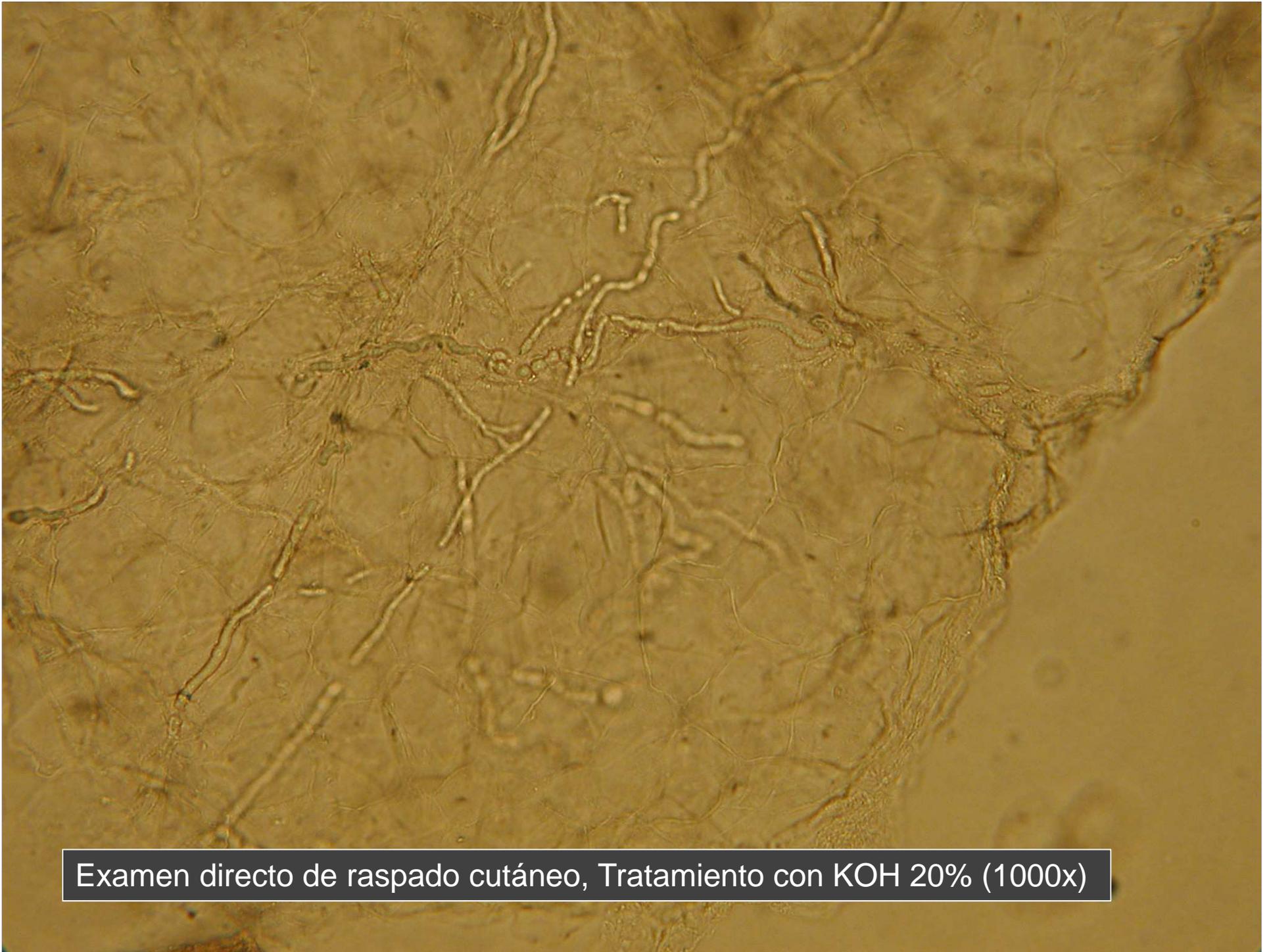


Micosis superficial: Tinea corporis o Dermatofitosis

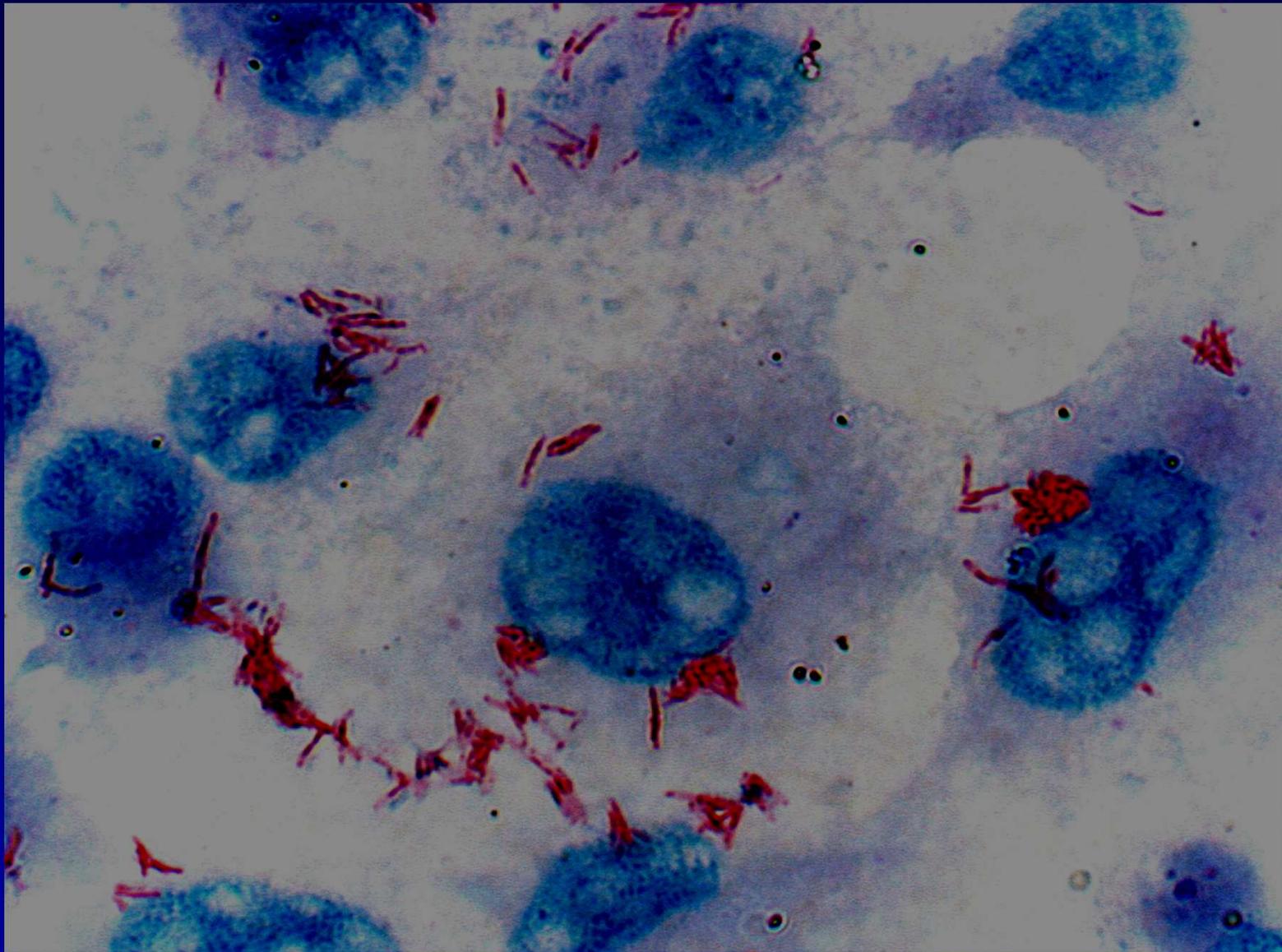


Examen micológico directo

Examen directo de raspado ungueal, Tratamiento con KOH 40% (1000x)



Examen directo de raspado cutáneo, Tratamiento con KOH 20% (1000x)



Examen directo de secreción bronquial,
Baciloscopía por Tinción de Ziehl Neelsen (1000x)

Recordemos que:

- **EN GENERAL:** Todo tipo de muestra para estudio bacteriológico de Koch debe ser **protegido de la luz,**
- En casos indispensables deben ser **conservadas a 4°C** y derivadas lo **antes posible** a Laboratorio para su procesamiento.



Cultivos

- Es el crecimiento in vitro de microorganismos en medios de cultivos líquidos o sólidos
- Permite el aislamiento del agente y su identificación posterior
- También comprende el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos

RECOMENDACIONES GENERALES

Es DEBER del profesional solicitante debe orientar al laboratorio cuando:

- Se trate de pesquisa de **bacterias fastidiosas**
- La hipótesis diagnóstica corresponda a un **agente no habitual** (Difteria)
- Se sospecha la presencia de microorganismos **exigentes o delicados** (Neisseria, Haemophilus)
- Se sospecha la presencia de agentes etiológicos **de alto riesgo o muy virulentos** (Vibrio cholerae, N. meningitidis)

RECOMENDACIONES GENERALES

- La toma de muestra para cultivo debe realizarse utilizando material estéril, tomadas por frotación, por punción, aspiración o sección de tejidos
- Las muestras tomadas con tórula deben ser humedecidas con medios de transporte, suero fisiológico o agua estéril.
- Las muestras óptimas para cultivo son las de fluidos o trocitos de tejidos
- El personal que toma muestras debe usar elementos de protección (bioseguridad).



RECOMENDACIONES GENERALES

- 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

RECOMENDACIONES GENERALES

- Para el traslado al laboratorio, luego de tomada las muestras deben introducirse en medios 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
- El traslado a laboratorio debe respetar la bioseguridad. **NO DEBE HABER DERRAMES**



Medios de Transporte de Muestras



- **Suero fisiológico estéril**
- **Amies o Stuart:** medio de transporte para todo tipo de secreciones tomadas con tórula
- **Cary Blair:** medio de transporte utilizado para coprocultivos.

mantenerlos a temperatura ambiente al momento de la toma de muestra

Medios de Transporte de Muestras



Cary-Blair
Bacterias fecales



Sturat
Secreciones



Amies
Bacterias fastidiosas

Medios de Transporte de Muestras

- **Sembrar antes de 48 hrs** (Stuart, Amies, C.Blair)
- Se produce **alteración en las proporciones** de las poblaciones bacterianas.
- No son adecuados para la evaluación directa. **La tinción Gram debe tomarse aparte.**



TIPOS 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 blanca o 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)



TIPOS DE MUESTRAS MÁS FRECUENTES

- **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

TIPOS DE MUESTRAS MÁS FRECUENTES

- **Punciones:** Tomar con Técnica Aséptica y enviar alrededor de 2 ml en la misma jeringa.
- **Anaerobios:** Tomar con Técnica aséptica 10 ml en jeringa, sellar y enviar al laboratorio (en medio de transporte para anaerobios)

Infecciones del torrente sanguíneo

HEMOCULTIVOS

- Toma de muestras antes del peak febril, entre 30 min. y 2,5 hrs antes.
- **VOLUMEN DE MUESTRA:**
- Adultos: dos (o mejor tres) muestras de 10 mL c/u cada 30 a 90 min.
- Niños: dos (o mejor tres) muestras de 2 mL/10 Kg peso.

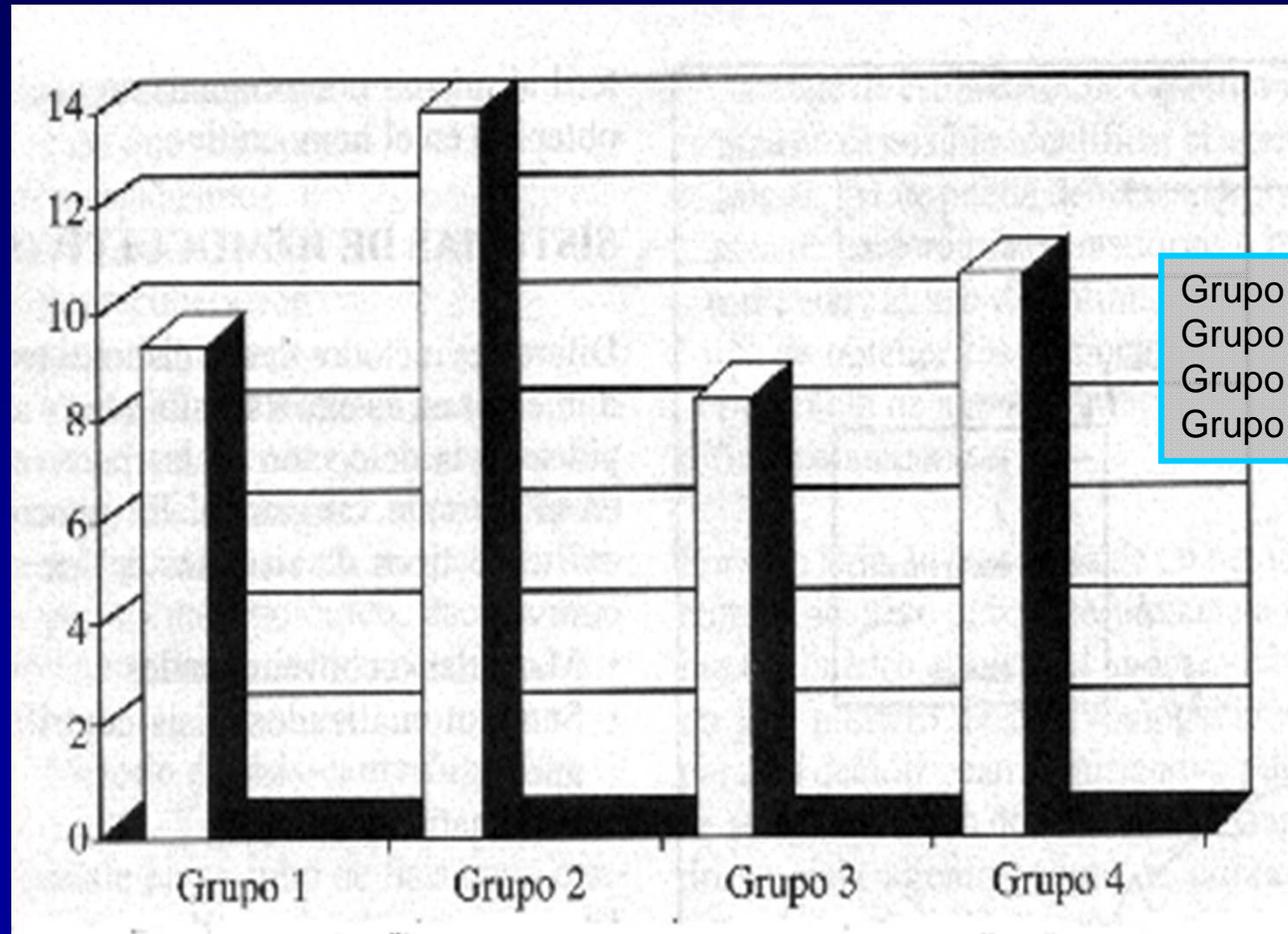


Infecciones del torrente sanguíneo

VOLUMEN DE LA MUESTRA

- Adultos: dos (o mejor tres) muestras de 10 mL c/u cada 30 a 90 min.
- Niños: dos (o mejor tres) muestras de 2 mL/10 Kg peso.
- La bacteremia es baja (1 a 10 ufc/mL), la probabilidad de éxito aumenta con el volumen de la muestra.
- Por cada mL adicional, la probabilidad aumenta entre 2 a 5%
- Muestra máxima: 1/4 del volumen de caldo en el frasco.

Porcentaje de positividad de los hemocultivos según el momento de la toma de la muestra.



Grupo 1: 12 a 2,5 hrs antes del PF
Grupo 2: 2,5 a 0,5 hrs antes del PF
Grupo 3: durante el PF
Grupo 4: 1 a 12 hrs. Después del PF

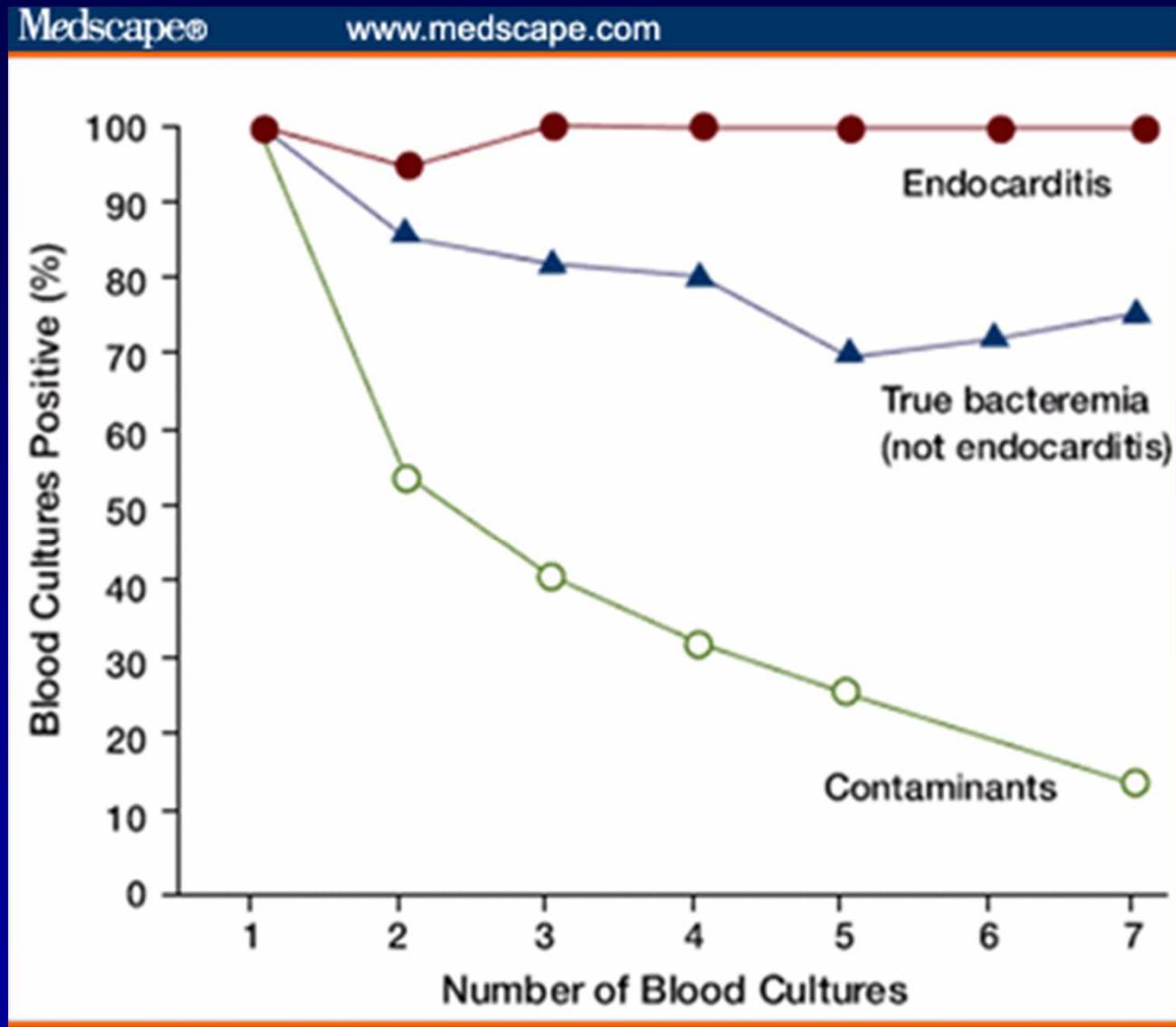
N: 78 pacientes con bacteremia

El mejor momento para el hemocultivo

- Toma de muestras antes del peak febril (PF), entre 30 min. y 2,5 hrs antes.
- **El PF puede ser precedido por la presencia de calofríos.**
- Si no hay calofríos y el PF es impredecible, pueden tomarse arbitrariamente 2 o tres muestras cada 30 a 90 minutos.



Número de muestras vs. resultados



Source: AHRQ© 2008 Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ)

Infecciones del torrente sanguíneo

condiciones para la toma de muestras

HEMOCULTIVOS

- La técnica debe ser practicada por personal capacitado, previo lavado clínico de manos y uso de guantes estériles, y antisepsia de la piel del paciente.
- Realizar aseo previo de la piel con agua jabonosa, solo si existe contaminación masiva. Secar.
- Después de la palpación de la vena, la piel debe ser lavada con povidona yodada, o gluconato de clorhexidina al 2-4%, aplicados de forma excéntrica. Dejar secar para que el antiséptico haga efecto.



Infecciones del torrente sanguíneo

condiciones para la toma de muestras

HEMOCULTIVOS

- En lo posible extraer muestras de diferentes sitios anatómicos
- Desinfectar los tapones con povidona yodada, dejar secar antes de puncionar la botella.
- El cambio de agujas puede prevenir la contaminación.
- Mezclar suavemente con el caldo para evitar coagulación y transportarlas al laboratorio a temperatura ambiente.



Infecciones del torrente sanguíneo (ITS)

- 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.

Infecciones del torrente sanguíneo

- Frente sospecha de ITS primaria a Catéter Venoso Central (CVC), éste podría 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 tomados de venas periféricas** y enviar ambas muestras al laboratorio.



Infecciones del torrente sanguíneo

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 semicuantitativo



Hemocultivo:

Muestra contaminada...?

- La contaminación ocurre generalmente durante la toma de muestras.
- Se considera aceptable 2 a 3% de contaminación.
- La tasa de contaminación es un **INDICADOR DE CALIDAD.**

Muestra contaminada...?

- Criterios de rechazo:
- Considerar en cuadro clínico (paciente, evolución)
- Considerar el tipo de MO aislado
- Considerar el n° de muestras que presentan el MO.
- Contaminantes en **UNA MUESTRA de hemocultivo:**
 - Staphylococcus spp. Coagulasa negativo 94%
 - Bacillus spp. 94%
 - Propionibacterium spp. 99%
 - Corynebacterium spp. 79%
 - Clostridium perfringens 50%
 - Streptococcus spp. Viridans 48%



Muestra contaminada...?

- Se considera como bacteremia verdadera el aislamiento del mismo microorganismo en varios hemocultivos, aunque sean microorganismos de la piel.



Muestras no adecuadas para estudios

NO son útiles para el cultivo de anaerobios, muestras tomadas en

- tórula, muestras de orina (excepto la punción suprapúbica), muestras
- de deposición (excepto búsqueda de *C. difficile*), expectoración,
- aspirado traqueal, lavado bronquioalveolar, secreción faríngea o
- nasofaríngea, secreción uretral, secreción vaginal o endocervical,
- loquios, exudados superficiales.



Muestras no adecuadas para estudios

Por rendimiento cuestionable o sin rendimiento

- Descarga de colostomías
- Escaras
- Loquios
- Vómitos
- Ulceras varicosas
- Aspirado gástrico en RN > de 24 horas



Muestras no adecuadas para estudios

- **POR INADECUADA RECOLECCIÓN**

- Muestra sin medio de transporte , sin rotulación ó mal rotulada
- Tiempo de transporte prolongado (orinas + de 1 hr sin refrigerar)
- Envase abierto o contaminado visiblemente ,quebrado, no estéril o inadecuado
- Muestras en duplicado , simultáneas o del mismo día (excepto hemocultivos)
- Muestra respiratoria contaminada con flora orofaríngea
- Muestras para cultivo anaerobio en tórula o transportada en medios aerobios.
- Depositiones sólidas o formadas para Toxina de Clostridium difficile.



Referencias:

- “Toma de muestras microbiológicas” Resolución exenta N° 150 del 19 de Noviembre año 2002.
- Manual de Toma de Muestras Microbiológicas 2004, Hospital Santiago Oriente “Dr. Luís Tisné B”
- Manual de Infecciones Intrahospitalarias, Medidas generales de Prevención y Control, Hospital Santiago Oriente “Dr. Luis Tisné B”
- Calidad en el Laboratorio de Microbiología, Aspectos prácticos. Dra. Dona Benadof Fuentes, Hospital Dipreca, Hospital Roberto del Río
- Manual de Toma de Muestras 2008, Laboratorio Central, Hospital de Valdivia
- Manual de Toma de Muestras 2008, Laboratorio BioNet
- Norma de Toma de Muestras Microbiológicas 2009, Hospital del Salvador.
- Hemocultivos, Profesionales de la Sección Bacteriología General, Dra. Patricia García C.* y Carlos Pérez C.* Pontificia Universidad Católica de Chile
- Manual de Toma de Muestras 2008, Hospital Sótero del Río.
- Boletín Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile.1997;26:146-149





**Gracias por su
atención**