

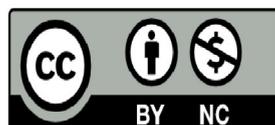
Lanza, Adrián Alberto

# Laboratorio clínico con orientación pediátrica, criterios preanalíticos analíticos y Postanalíticos

2023

*Instituto: Ciencias de la Salud*

*Carrera: Bioquímica*



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons.

Atribución – no comercial 4.0

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

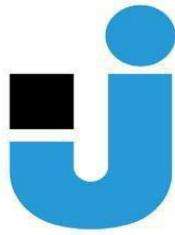
Documento descargado de RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital de la Universidad Nacional Arturo Jauretche

Cita recomendada:

Lanza, A. A. (2023). *Laboratorio clínico con orientación pediátrica, criterios preanalíticos analíticos y Postanalíticos* [tesis de grado, Universidad Nacional Arturo Jauretche]

Disponible en RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital UNAJ

<https://biblioteca.unaj.edu.ar/rid-unaj-repositorio-institucional-digital-unaj>



Universidad Nacional  
**ARTURO JAURETCHE**

**Instituto: Ciencias de la Salud**  
**Carrera: Bioquímica**

**Laboratorio clínico con orientación pediátrica,**  
**criterios preanalíticos analíticos y**  
**postanalíticos**

Alumno: Adrian Alberto Lanza.

Directora: Andrea Patricia Magdalena Villagra.

Fecha de entrega: Marzo de 2023.

## Índice

|   |    |
|---|----|
| <b>Resumen</b> .....  | 3  |
| <b>Introducción</b> .....   | 3  |
| <b>Etapa preanalítica</b> .....                                       | 4  |
| <b>Criterios de rechazo</b> .....                                     | 5  |
| <b>Fase Analítica</b> .....   | 6  |
| <b>Fase postanalítica</b> .....                                       | 7  |
| <b>Objetivo general</b> .....   | 9  |
| <b>Objetivos específicos</b> .....                                    | 10 |
| <b>Procesos del laboratorio analizados</b> .....                      | 10 |
| <b>Análisis de muestras respiratorias</b> .....                       | 10 |
| <b>Recolección, transporte y conservación</b> .....                   | 10 |
| <b>Procesamiento de la muestra</b> .....                              | 12 |
| <b>Hemocultivos de sangre periférica</b> .....                        | 17 |
| <b>Toma y conservación de la muestra</b> .....                        | 18 |
| <b>Procesamiento de las muestras</b> .....                            | 19 |
| <b>Catéteres</b> .....  | 20 |
| <b>Toma de muestra</b> .....  | 20 |
| <b>Procesamiento de la muestra</b> .....                              | 21 |
| <b>Urocultivos</b> .....  | 22 |
| <b>Recomendaciones Generales</b> .....                                | 22 |
| <b>Instructivo para la recolección de orina para urocultivo</b> ..... | 22 |
| <b>Procedimiento:</b> .....   | 23 |
| <b>Niñas y niños sin control de esfínteres</b> .....                  | 23 |
| <b>Procedimiento:</b> .....   | 23 |
| <b>Transporte</b> .....   | 25 |
| <b>Punción supra púbica</b> .....                                     | 25 |
| <b>Procesamiento de la muestra</b> .....                              | 26 |
| <b>Coprocultivo</b> .....   | 27 |
| <b>Toma de muestra</b> .....  | 27 |
| <b>Procesamiento de coprocultivo</b> .....                            | 27 |
| <b>Investigación de Campylobacter sp.</b> .....                       | 28 |
| <b>Examen coproparasitológico</b> .....                               | 29 |
| <b>Toma de muestra</b> .....  | 29 |
| <b>Procesamiento del examen coproparasitológico</b> .....             | 30 |
| <b>Resultados</b> .....   | 31 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Errores en muestras respiratorias .....</b> | <b>31</b> |
| <b>Errores en hemocultivos .....</b>           | <b>32</b> |
| <b>Errores en urocultivo .....</b>             | <b>32</b> |
| <b>Errores en coprocultivo.....</b>            | <b>33</b> |
| <b>Errores en el coproparasitológico. ....</b> | <b>34</b> |
| <b>Errores totales.....</b>                    | <b>34</b> |
| <b>Discusión. ....</b>                         | <b>35</b> |
| <b>Conclusión .....</b>                        | <b>36</b> |
| <b>Bibliografía .....</b>                      | <b>38</b> |

## **Resumen**

El diagnóstico microbiológico es sumamente importante para tratar la mayoría de las enfermedades de origen infeccioso que se presentan en un hospital, y brindar resultados confiables, en el menos tiempo posible, es una de las principales prioridades en cualquier laboratorio. El ciclo diagnóstico de una enfermedad infecciosa se divide en tres etapas: preanalítica, analítica y postanalítica. En cualquiera de las diferentes etapas se pueden cometer errores, afectando el resultado, y por ende, el diagnóstico del paciente. Es por eso, que registrar y evaluar periódicamente los posibles errores que surjan a lo largo del proceso diagnóstico cobra mucha importancia, ya que a través de estos se pueden aplicar medidas que minimicen los errores que se pudieran cometer.

El Hospital General de Niños Pedro de Elizalde es un hospital pediátrico ubicado en la Ciudad de Buenos Aires que atiende aproximadamente a 550000 niños al año entre pacientes ambulatorios e internados.

En este estudio, mediante una pasantía calificada en los distintos sectores del laboratorio de microbiología del hospital general de niños Pedro de Elizalde, se describen los procesos realizados en las diferentes etapas del diagnóstico microbiológico analizando los eventos que se pueden clasificar como errores y proponiendo luego una serie de medidas para intentar minimizarlos. Por limitaciones del estudio no se pudieron analizar los posibles errores en la etapa postanalítica.

De un total de 419 muestras ingresadas se detectaron un total de 99 errores en total (23.96%), de los cuales 85 (85.86%) ocurrieron en la etapa preanalítica y 14 (14.14%) en la etapa analítica, la distribución de los resultados coincide de manera general con otros estudios similares. En el área urocultivo fue donde se vio un mayor número de errores específicamente en la etapa preanalítica. Gracias a esto se pudieron realizar recomendaciones que pudieran ayudar a minimizar los errores en estas etapas del proceso de diagnóstico microbiológico.

## **Introducción**

El principal objetivo de la microbiología clínica es identificar el agente etiológico de una infección y determinar la susceptibilidad a determinados antimicrobianos. El ciclo diagnóstico de una enfermedad infecciosa inicia con una etapa preanalítica, en la cual, el

médico tratante realiza un diagnóstico presuntivo y solicita la recolección de una muestra para realizar un diagnóstico microbiológico, esta etapa es crítica para obtener resultados válidos. Una vez recibida la muestra en el laboratorio comienza la etapa analítica o de diagnóstico microbiológico en la cual la muestra es procesada mediante diferentes metodologías obteniéndose un resultado final. Luego en la etapa post analítica se prepara el informe con el resultado final que es enviado al médico o al servicio de dónde provino dicha muestra. Un diagnóstico microbiológico certero es de suma importancia a la hora de decidir la intervención terapéutica, reduciendo la morbimortalidad de los pacientes y disminuyendo gastos innecesarios en antibióticos e inducción de mecanismos de resistencia bacteriana. (Dra. Margareta Mühlhauser P., 2014)

Tradicionalmente los microbiólogos, al igual que otros bioquímicos se concentraron en las mediciones científicas (la etapa analítica) en la actualidad está claro que los sucesos que ocurren antes de la medición (etapa preanalítica) y luego de que la determinación científica se haya completado (etapa post analítica), son tan importantes como la exactitud de la medición. El control del funcionamiento a través del ciclo completo es parte del aseguramiento de la calidad para el laboratorio. (Winn W., 2006)

### **Etapa preanalítica.**

El primer eslabón en el diagnóstico de una infección es la calidad de la muestra que recibe el Laboratorio de Microbiología y la información que debe acompañarla para procesar correctamente el material enviado, de esto depende la obtención de un resultado exitoso. Una muestra deficiente puede conducir a errores en el diagnóstico, de gran impacto en el pronóstico y seguridad en la atención de los pacientes y a una mala utilización de recursos. El éxito de un examen microbiológico se juega desde el momento de la toma de muestra. Por lo tanto, aquellas personas involucradas deben conocer las pautas establecidas para la recolección correcta de las muestras, en el momento oportuno, del sitio más representativo, con los elementos adecuados, y finalmente como transportarla y conservarla hasta su procesamiento. (Rolando Soloaga, 2013)

Toda muestra recolectada o conservada en forma incorrecta lleva a resultados confusos ya que no permitirá recuperar a los agentes etiológicos causantes de la infección. Por lo tanto, un diagnóstico equivocado puede conducir al empleo erróneo y/o innecesario de agentes antimicrobianos.

Recomendaciones generales:

- En el caso de muestras de pacientes ambulatorios brindar instructivos claros y detallados haciendo uso de lenguaje simple, fácil de entender y que no de margen a falsas interpretaciones.
- En el caso de muestras recolectadas dentro del laboratorio o institución, las mismas deben obtenerse, siempre que sea posible, antes de la administración de antimicrobianos; del sitio en que es más probable el hallazgo del microorganismo infeccioso con el mínimo de contaminación de la flora endógena (o saprófita) del paciente; y en el estadio agudo de la enfermedad, cuando los gérmenes son más numerosos.
- Debe remitirse en cantidad suficiente para permitir un análisis completo y debe ser colocada en recipiente estéril y remitida de inmediato al laboratorio para que el resultado tenga validez etiológica.
- Debe ser acompañada de datos clínicos suficientes para que guíen en la selección de medios de cultivo adecuados y de técnicas apropiadas.
- Deben estar correctamente identificadas y rotuladas.
- Para conservar la viabilidad de los microorganismos las muestras pueden colocarse en un medio de transporte, por ej. Stuart.

### **Criterios de rechazo.**

Si la muestra o la solicitud de pedido de análisis no es la adecuada, se debe comunicar con el médico para aclarar el pedido de solicitud y pedir una nueva muestra en el caso que sea posible, la muestra debe ser rechazada en el caso de den alguna de las siguientes situaciones (Bacteriología-REDLAB-GCBA, 2017) (Dra.Laura Cabezas, 218):

- Discrepancias entre la solicitud de análisis y la muestra enviada.
- Solicitudes incompletas, no indican que muestra se trata y/o sitio anatómico del que procede.
- Muestras no rotuladas.
- Muestras derramadas.
- Muestras sin medio de transporte o mal conservadas
- Muestras enviadas en frasco no estéril o con formol
- Muestras inadecuadas para el estudio solicitado
- Muestras con poco volumen para realizar los estudios solicitados

- Duplicadas en el transcurso de 24 horas sin la justificación del médico solicitante.  
Se exceptúan los hemocultivos
- En jeringas con agujas reencapuchadas que no reúnen condiciones de bioseguridad.
- Espustos para gérmenes comunes con gran cantidad de saliva macroscópica.
- Muestras no representativas para el sitio de infección.
- Muestras evidentemente contaminadas
- Tiempo excesivo entre que se obtuvo la muestra y se envió al laboratorio

No refrigerar: muestras para hemocultivos, cultivos oculares, cultivos de oído medio, muestras genitales. Tampoco aquellas en las que se busquen anaerobios, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Shigella*, *Haemophilus influenzae*.

Muestras no aptas: punta de sonda vesical, bolsa colectora, tubo endotraqueal, punta de drenaje pleural, hisopado de escaras y tejidos necróticos, gasas, hisopados de fístulas, materia fecal forme.

Es importante la consulta entre el microbiólogo y el médico, para asegurar una comunicación abierta y activa que es la base del éxito en los equipos de salud.

### **Fase Analítica.**

Históricamente la fase analítica fue la que más afectaba a la exactitud de las mediciones debido a la cantidad de pasos susceptibles a errores humanos que se dan en esta etapa, sin embargo, desde la automatización de los procedimientos, los resultados erróneos se redujeron, así como también se generaron nuevas pautas a tener en cuenta con el fin de brindar resultados fiables. Es por eso, que en esta etapa los errores se generan, principalmente, en el procesamiento de las muestras, pudiendo implicar la preparación de la muestra, por ejemplo al centrifugar líquido cefalorraquídeo puede destruir a las amebas de vida libre; el examen directo, por ejemplo con la mala conservación o precipitación de los colorantes; el cultivo, como por ejemplo, en el uso de placas compartidas puede traer inconvenientes por salpicaduras de una muestra hacia la otra, así como que la muestra se siembre en una posición equivocada y en realidad corresponda a otra; y finalmente, la interpretación

En la actualidad para garantizar la calidad de la etapa analítica se debe monitorear y registrar en planillas adecuadas el funcionamiento de cada uno de los insumos reactivos y equipamiento utilizado para el diagnóstico microbiológico. (Rolando Soloaga, 2013)

Para ello es necesario monitorear a través del control de calidad interno los siguientes ítems:

- Medios de cultivo
- Reactivos y colorantes
- Antibióticos
- Equipamiento.

Control de calidad interno:

Deberá realizarse cada vez que se cambian los lotes de los insumos utilizados y en la preparación de cada medio de cultivo, pruebas bioquímicas, colorantes, etc. El control de calidad interno se lleva a cabo con cepas de microorganismos certificados llamadas ATCC.

Control de calidad externo:

Consiste en la Evaluación Externa de los procedimientos realizados en el laboratorio, con el fin de detectar errores sistemáticos y compararse con sus pares, a partir de una cepa incógnita y la información enviada para su interpretación, la muestra incógnita se tendrá analizar como una muestra de paciente y se tendrá que informar al ente solicitante.

### **Fase postanalítica**

Aunque todos los procedimientos microbiológicos de la fase de preanalítica y de la analítica hayan sido perfectos, si la comunicación del resultado (examen directo y cultivo) no fue eficiente en tiempo y forma, sobre todo en infecciones graves su utilidad será casi nula.

Muchas veces se asume que es suficiente con emitir el informe escrito del resultado microbiológico, no obstante, puede ocurrir que nunca llegue a las manos del médico porque se traspapeló en el camino o dentro de la misma historia clínica del paciente o llegó demasiado tarde. También puede suceder que el profesional responsable no esté al tanto de la relevancia de ciertos mecanismos de resistencia, de la implicancia farmacocinética-farmacodinámica de la CIM y su relación con la probabilidad de éxito terapéutico o de la significancia del aislamiento de determinados microorganismos. (Rolando Soloaga, 2013)

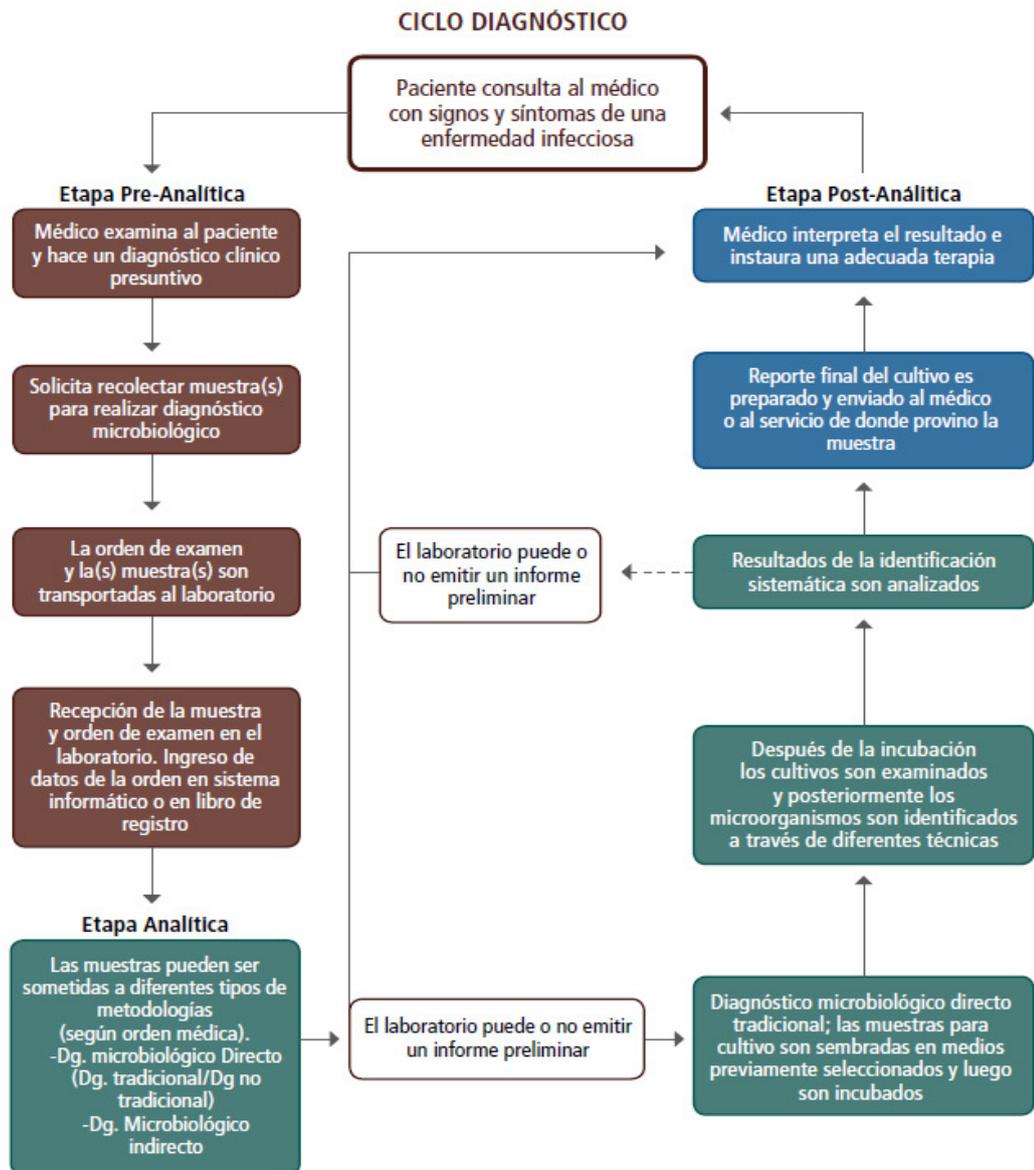
Los errores más frecuentes en el informe, y por ende en la etapa postanalítica, se deben principalmente a:

- Informes de antibióticos no útiles para el sitio de la infección. Ejemplo: nitrofuranos en infecciones urinarias o diarreicas.
- Informes de antibióticos en microorganismos resistentes naturalmente o informar como sensibles a dicho antibiótico. Ejemplo: cepas de *P. vulgaris* y *P. penneri* con resistencia natural a amoxicilina.
- Informe de antibióticos de mayor espectro, toxicidad o costo en cepas sensibles a otras alternativas. Ej: Vancomicina en cepas de estafilococos sensibles a oxacilina.
- Falta de comunicación o comentario acerca de la probabilidad de selección de cepas resistentes in vivo y fracaso terapéutico con el uso de, por ejemplo, Cefalosporinas de 3o generación y enterobacterias con mecanismos de resistencias inducibles.
- No advertir probabilidad de fracaso terapéutico en cepas con mecanismos de resistencias y concentración mínima inhibitoria (CIM) por debajo de punto de corte.
- Eliminar alternativas terapéuticas, sobre todo si no hay otra, en base solo al mecanismo y no a la aplicación de parámetros pK-pD.

Para poder comprender las diferentes etapas del ciclo diagnóstico e identificar las posibles fallas que puedan originar errores en los resultados y en la interpretación de los mismos, es necesario conocer los procedimientos que se realizan en el laboratorio microbiológico. El laboratorio de microbiología del hospital de niños Pedro de Elizalde, es un laboratorio que recibe muestras tanto de pacientes internados en el hospital, como de pacientes ambulatorios y algunos tipos de muestras derivadas de otros centros de salud.

El laboratorio se divide en diferentes subsectores los cuales se componen de: urocultivo y coprocultivo; respiratorios y micología; vigilancia y cultivos especiales (leches, partes blandas, líquido cefalorraquídeo, etc.); hemocultivos; micobacterias; y parasitología. Para realizar este estudio se realizó una pasantía con rotación por los sectores de: respiratorios, hemocultivo, urocultivo y coprocultivo y parasitología.

## Ciclo diagnóstico en una enfermedad infecciosa.



Modificación de Koneman's Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology, 6th Edition, United States, Lippincott Williams & Wilkins, 2006:1-61

### Objetivo general.

Mediante la realización de una pasantía calificada en el hospital de niños Dr. Pedro de Elizalde, se espera adquirir práctica y conocimientos sobre los procedimientos en las diferentes etapas del ciclo diagnóstico de un laboratorio microbiológico, así como identificar los errores en dichas etapas y proponer mejoras en el proceso de laboratorio.

## **Objetivos específicos**

- Participar de forma activa en la recepción de muestras destinadas al laboratorio de microbiología.
- Adquirir entrenamiento, experiencia y criterio en el manejo de equipos, instrumental de laboratorio y manejo de muestras aplicando los conocimientos teóricos adquiridos a lo largo de la carrera.
- Adquirir conocimientos sobre el sistema informático y la elaboración de los informes finales del laboratorio microbiológico.
- Ampliar mis conocimientos en el área de microbiología pediátrica.
- Identificar los errores más frecuentes en la etapa preanalítica, analítica y postanalítica que ocurren en un laboratorio de microbiología
- Proponer mejoras en el proceso del laboratorio.

## **Procesos del laboratorio analizados.**

### **Análisis de muestras respiratorias.**

Las muestras respiratorias se pueden obtener por métodos no invasivos (esputo, esputo inducido, aspirado traqueal) o por métodos invasivos por broncoscopio (BAL, MiniBAL, cepillo protegido, TBB) o sin broncoscopio (biopsia pulmonar) dependiendo de las características del cuadro clínico del paciente.

1. Esputo (pacientes ambulatorios o sin ARM)
2. Aspirado traqueal (paciente en ARM)
3. Lavado broncoalveolar o BAL (muestra ideal para diagnóstico de la mayoría de los patógenos)

## **Recolección, transporte y conservación.**

### **Espuito**

#### **Toma de muestra**

- Expectoración profunda del árbol bronquial. No debe contener saliva.

- El paciente debe proceder a la limpieza bucal a la mañana, al levantarse, luego de una inspiración profunda, recoge las secreciones producto de la tos profunda.
- Recoger en un recipiente de boca ancha, transparente y cierre hermético.
- En caso de no tener tos productiva, nebulizar con solución hipertónica con o sin agregado de fluidificante (glicerina) a temperatura ligeramente superior a la corporal.
- Mantener al abrigo de la luz solar.
- La muestra debe ser procesada dentro de las 2 horas de emitida. En el caso de sospecha de tuberculosis, se recomienda la obtención de dos o tres muestras.

### **Expectoración Inducida.**

Se obtiene tras hacer inhalar al paciente 20-30 ml de solución fisiológica estéril mediante un nebulizador durante un período 15-20 minutos. Su valor diagnóstico equivale al esputo por expectoración espontánea, aunque con experiencia y meticulosa técnica de obtención se puede minimizar la contaminación nasobucal. Se recomienda como alternativa al esputo en el caso que no sea posible una expectoración espontánea. Esta técnica debe realizarse en habitaciones ventiladas, por la posibilidad que el paciente presente tuberculosis.

En el caso de niños, que no saben expectorar, luego de la nebulización y el masaje fisioterápico succionar las secreciones con aspirador manual o mecánico.

Las muestras se recolectan en frascos plásticos estériles, bien cerrados, con tapa a rosca. Los recipientes deben estar rotulados con datos identificatorios de muestra y paciente, acompañados de ficha epidemiológica para eventual cultivo de micobacterias.

### **Aspirado traqueal**

Se introduce una sonda de aspiración a través del tubo endotraqueal o de la traqueotomía y se succionan las secreciones respiratorias. La instilación de una pequeña cantidad de solución fisiológica estéril ( $\pm 5$  ml) puede facilitar la obtención de las muestras muy viscosas. Se puede considerar la alternativa al esputo en el paciente intubado y su valor predictivo negativo es muy similar.

Se debe remitir al laboratorio dentro de las 2 horas de tomada la muestra a temperatura ambiente.

El material obtenido por aspiración se coloca en un tubo cónico estéril con tapa a rosca.

Se puede guardar durante 24 horas en heladera (2-8°C).

## **Lavado bronco-alveolar (BAL)**

### **Toma de muestra**

El material se extrae a través de un fibrobroncoscopio, el cual debe enclavarse en el árbol bronquial. Se instilan  $\pm$  120 ml de solución fisiológica y posteriormente será recuperada entre 10 a 100 ml.

Se debe remitir al laboratorio dentro de las 2 horas de tomada la muestra a temperatura ambiente.

El material obtenido por aspiración se coloca en varios frascos estériles de boca ancha con tapa a rosca (enviar toda la cantidad). La primera alícuota (más contaminada) solo será apta para la investigación de micobacterias, Legionella sp. y hongos (diferentes de Cándida sp). La segunda y tercera porción se reserva para el estudio cuantitativo de gérmenes comunes.

Se puede guardar por un máximo de 24 horas en heladera (2-8°C).

## **Procesamiento de la muestra**

### **Espuito**

### **Procedimiento de siembra**

- Idealmente el procesamiento de las muestras debe realizarse en un gabinete de bioseguridad de clase 2.
- La muestra se debe procesar lo antes posible, dado el efecto adverso que tienen los retrasos en la recuperación de ciertos patógenos.
- Seleccionar las áreas más purulentas de la muestra para su procesamiento.
- Realizar al menos 2 frotis para tinción con Gram.
- Inocular los medios de cultivo Agar Sangre (AS), Agar Chocolate (AChoc), Agar Mac Conkey lactosa (McL) con ansa estéril, estriando en 4 cuadrantes.

- Incubar las placas a 35-37°C, (AS y Achoc en atmósfera enriquecida con 5% CO<sub>2</sub>) por 48 a 72 horas, con lectura diaria de los cultivos. La placa de McL va a idéntica temperatura, pero con atmósfera ambiental.

## **Examen directo**

Se utiliza para valorar de la calidad de las muestras de expectoración. La presencia de células epiteliales planas es un parámetro que indica la contaminación de la muestra con secreciones orofaríngeas, mientras que la presencia de leucocitos polimorfonucleares indica la presencia de inflamación activa. Es importante asegurar la buena calidad y representatividad de las muestras de expectoración, dado que el seguimiento de muestras no representativas del tracto respiratorio inferior (saliva) puede llevar a errores diagnósticos y terapéuticos.

## **Técnica de observación de tinción de Gram**

- Examinar a bajo aumento (10x) 20-40 campos del frotis de la expectoración teñido con Gram y valorar la relación entre células epiteliales planas (CEP) y leucocitos polimorfonucleares (LPMN).
- Existen varios criterios que pueden aplicarse para concluir sobre la calidad de la muestra, siendo uno de los más utilizados para la aceptabilidad de la muestra la observación de < de 10 CEP (1) y > de 25 leucocitos LPMN por campo de bajo aumento.
- En caso de que el frotis sugiera que la muestra es de buena calidad (cumple con criterio de aceptabilidad) se pasa a su observación a mayor aumento (100x) con aceite de inmersión, valorando la presencia de algún morfotipo bacteriano predominante, lo que ayudará a la posterior valoración del cultivo.

## **Lectura e interpretación de cultivos**

Realizar una primera lectura a las 24 horas de incubación (las placas se incuban 24 a 48 horas más, aunque se observe crecimiento inicial y se estudie, con el fin de detectar patógenos que no estuvieran presentes inicialmente o pudieran pasar desapercibidos). El resultado del examen directo con Gram debe utilizarse como guía para la interpretación del cultivo. Identificar y realizar estudio de sensibilidad de los microorganismos que muestran un desarrollo significativo y que presentan un morfotipo compatible con algún patógeno primario potencial.

Se define como desarrollo significativo: crecimiento en por lo menos 2 cuadrantes de la placa, que supera la microbiota normal de fondo. También se considera como significativo un menor recuento, si se trata de un patógeno primario que crece puro o prácticamente puro (otra microbiota normal es mínima o está ausente en la placa) y es consistente con el morfotipo bacteriano predominante observado en el Gram en asociación con LPMN.

## **Limitaciones**

- Falsos negativos: pueden relacionarse con administración previa de antibióticos, muestras mal recolectadas, retrasos en el envío y/o procesamiento de las muestras.
- Falsos positivos: dado que varios agentes de neumonía (como *H. influenzae*, *S. pneumoniae*) pueden también encontrarse formando parte de la microbiota normal del tracto respiratorio superior es importante una correcta valoración del examen directo y el cultivo para diferenciar entre ambas situaciones. La contaminación de las muestras con la microbiota respiratoria normal con su consiguiente desarrollo en cultivo y la sobreinterpretación por parte del laboratorio pueden llevar a resultados falsamente positivos.

## **Aspirado traqueal**

Esta muestra se utiliza fundamentalmente para valorar la colonización e infección del tracto respiratorio en el paciente ventilado. Tiene valor análogo al esputo por su contaminación con la flora orofaríngea. No obstante un resultado de cultivo semicuantitativo de 3 o 4 cruces (desarrollo en tres o cuatro cuadrantes de la placa de Petri) se correlaciona bien con la etiología de la neumonía en el paciente ventilado.

Se enviará al laboratorio en frasco trampa o tubo estéril.

## **Procesamiento de la muestra**

### **Procedimiento:**

- Debe realizarse, en lo posible, en gabinete de bioseguridad; lo antes posible, seleccionando las áreas más purulentas.
- El proceso es análogo al del esputo (confección de 2 frotis para tinción con Gram y examen directo, siembra en AS, Achoc y McL).

- También se realiza el examen directo con tinción de Gram para determinar la calidad de la muestra, si bien los criterios de aceptabilidad no están tan universalmente aceptados como para la expectoración, se establece como criterio de rechazo en aspirados traqueales de pacientes adultos la presencia de >10 CEP/LPMN.
- Incubación: a 35-37°C, (AS y ACHO en atmósfera enriquecida con 5% CO<sub>2</sub>) por 48 a 72 horas, con lectura diaria de los cultivos. La placa de McL va a idéntica temperatura, pero con atmósfera ambiental.

### **Lectura e interpretación de los cultivos:**

- El desarrollo observado se expresa en forma semicuantitativa.
- Se considera como significativo un resultado de cultivo semicuantitativo de tres o cuatro cruces (desarrollo en tres o cuatro cuadrantes de la placa de Petri), de un microorganismo puro o predominante, dado que se correlacionan bien con la etiología de la neumonía en el paciente ventilado.

### **Procesamiento del BAL (lavado bronco alveolar)**

#### **Procedimiento de siembra**

Método del ansa calibrada:

- Las placas a utilizar se etiquetan con el número identificador de la muestra y además se rotula el volumen de muestra con el que serán inoculadas:  
 Agar Sangre (AS): una placa se rotula “10 ul” y la otra “100 ul”.  
 Agar chocolate (Acho): una placa se rotula “10 ul” y la otra “100 ul”.  
 Agar Mac Conkey lactosa (McL): una placa se rotula “10 ul” y la otra “100 ul”.
- Con ansa calibrada (de 10 ul) colocar 10 ul de muestra en cada una de las placas rotuladas como “10 ul”. En cada placa rotulada como “10 ul” → cada colonia observada = 100 UFC/ml (es decir que multiplico x 100 el número total de colonias que observo para determinar el número de UFC por ml de muestra).
- Con pipeta automática transferir 100 ul de muestra a cada una de las placas rotuladas como “100 ul”. En cada placa rotulada como “100 ul” cada colonia =

10 UFC/ml (es decir que multiplico x 10 el número total de colonias que observo para determinar el número de UFC por ml de muestra).

Incubar los cultivos a 35°C, (AS y Achoc en atmósfera enriquecida con 5% CO<sub>2</sub>) por 48 a 72 horas, con lectura diaria de los mismos.

### **Confección de frotis:**

- Idealmente (una vez que la muestra fue sembrada) realizar citocentrifugación para la preparación de los frotis a partir del sedimento. Se confeccionan 3 láminas; una para tinción con Gram y las otras se reservan en caso de que se requiera repetir o realizar otra coloración.
- La presencia de más de 1% de células epiteliales planas indica contaminación orofaríngea.
- La observación de microorganismos en la tinción de Gram es, en general, indicativo de presencia de neumonía.

No existe unanimidad de criterios para la interpretación de la tinción de Gram en este tipo de muestras ya que es muy dependiente del volumen instilado, forma de realizar la toma de muestra, tipo de centrifugación, etc.

### **Interpretación de los cultivos:**

- Cuantificar el desarrollo observado en los medios sembrados: contar las colonias y multiplicar por el factor de dilución para determinar el número de bacterias presentes en 1 ml de material.
- Interpretación del recuento obtenido: identificar los microorganismos presentes en recuento significativo ( $\geq 10^4$  UFC/ml);
- Se considera que un recuento de colonias  $\geq 10^4$  UFC/ml es consistente con la etiología bacteriana de la neumonía, mientras que recuentos inferiores indican probablemente contaminación con la microbiota orofaríngea.
- El resultado del examen directo con tinción de Gram debe considerarse en conjunto con el resultado del cultivo para guiar la toma de decisiones; un patógeno primario que crece puro, pero sin alcanzar el recuento establecido como

significativo debería identificarse si es consistente con el morfotipo observado en el examen directo (especialmente si se observó asociado a LPMN).

### **Limitaciones:**

Hay que recordar que son múltiples los agentes de neumonía que no crecen en los medios de cultivo rutinariamente utilizados en el laboratorio.

Falsos negativos: pueden relacionarse con administración previa de antibióticos, muestras mal recolectadas, retrasos en el envío y/o procesamiento de las muestras.

Falsos positivos: contaminación de las muestras con la microbiota respiratoria (recordar la alta colonización traqueal en pacientes internados, especialmente en aquellos ventilados) que desarrolla posteriormente en cultivo, junto con la sobreinterpretación por parte del laboratorio pueden llevar a resultados falsamente positivos. Recordar que las especies de *Cándida* no son causa de neumonía excepto posiblemente en pacientes oncológicos, trasplantados de pulmón y neonatos. La colonización por *Cándida* del árbol bronquial en enfermos críticos con respiración mecánica es común. Múltiples estudios prospectivos y retrospectivos, incluidos estudios de autopsias, demuestran sistemáticamente el poco valor predictivo del crecimiento de *Cándida* a partir de secreciones respiratorias, incluyendo el líquido de lavado bronco-alveolar, aún en los pacientes antes mencionados. Por tanto, si crece *Cándida*, se advierte su presencia pero se reporta como contaminante del tracto respiratorio superior.

## **Hemocultivos de sangre periférica**

### **Preparación de los frascos**

- Rotular con los datos filiatorios del paciente (nombre, apellido y número de registro).
- Rotular con fecha y hora de extracción (fundamental para interpretación de los resultados). En frascos con código de barras, evitar escribir o pegar etiquetas sobre los mismos.

## **Toma y conservación de la muestra**

### **Momento de la extracción:**

Lo ideal es extraer los hemocultivos una hora antes del inicio de los síntomas. Como este hecho es imposible de predecir con exactitud, se recomienda que la sangre para cultivo sea extraída lo antes posible después del comienzo de la fiebre y los escalofríos, o siempre que se sospeche una infección grave. No obstante, el momento de la extracción de la muestra de sangre es indiferente si la bacteriemia es continua.

Antes de iniciar la terapia antibiótica.

En pacientes que están en tratamiento antibiótico en el momento del valle (menor concentración antibiótica en sangre).

### **Obtención de la muestra:**

Por venopunción (evitar extracción a través de catéteres porque aumenta la contaminación—solo se extraerá sangre a través de los mismos para evaluar infección asociada a su utilización). Cada muestra de hemocultivo se extraerá de un sitio anatómico diferente.

- Buscar y palpar la vena adecuada.
- Limpiar la zona con alcohol etílico al 70% (en pediatría la clorhexidina no está recomendada).
- Dejar actuar 1 minuto
- Desinfectar con alcohol iodado y dejar actuar durante 2 minutos. No volver a tocar la zona luego de este último paso.
- Descontaminar la tapa de los frascos de hemocultivos con alcohol etílico 70%.
- Proceder a la extracción. Inocular los frascos rápidamente para evitar la coagulación de la sangre en la jeringa, atravesándolos con la aguja en posición vertical.
- Inocular las botellas sin efectuar cambios de agujas, (ya que esto no disminuye la contaminación), invirtiéndolos varias veces para mezclar la sangre y el medio de cultivo. Una (1) venopunción se considera “1” muestra, independientemente del número de frascos inoculados.



*Figura 1 Frasco de hemocultivo*

## **Procesamiento de las muestras**

Luego de recibirse los frascos en el laboratorio se introducen en el equipo (en caso de hemocultivos automatizados).

Se mantienen durante cinco (5) días, tiempo durante el cual los frascos permanecen a 37° y en rotación continua.

En caso de un frasco con resultado positivo, se retirará la botella del equipo y se precede al sembrado de la misma.

El sembrado se realiza en cabina de bioseguridad clase 2 de la siguiente manera.

- Lavado de manos.
- Se preparan los materiales a utilizar dentro de la cabina (guantes, medios de cultivo AS ACh y Mcl, agujas y jeringa 1cc, ansa descartable, portaobjetos, algodón y alcohol etílico al 70%, descartador rígido de cortopunzantes)
- Rotular los medios de cultivo y portaobjetos.
- Luego de colocarse los guantes agitar el frasco por inversión y descontaminar la tapa de los frascos con alcohol etílico al 70%.
- Tomar una pequeña cantidad y colocar una fracción en los portaobjetos uno para realizar observación directa (fresco) y otro para colorear por metodología Gram.
- Cambiar la aguja y colocar una alícuota en cada uno de los medios de cultivo.
- Con un ansa descartable estéril sembrar en los tres medios de cultivo en cuatro estrías.

Luego del procedimiento de siembra colocar los medios de cultivo AS y Ach en estufas a 35° con atmosfera de CO2 y el medio Mcl en estufa a 3° con atmosfera ambiente.

## **Catéteres.**

### **Toma de muestra.**

#### **Catéter removible.**

- Previo a la remoción, extraer una muestra de hemocultivo,
- Lavarse las manos con antiséptico.
- Colocarse guantes estériles.
- Realizar la desinfección de la zona pericatéter con iodo-povidona durante 1 minuto. Remover con alcohol 70%.
- Retirar el catéter, sin que roce la piel.
- En forma aséptica colocar 4-5 cm de la punta en un tubo seco estéril.

Si se extrajo el catéter fuera del horario de laboratorio agregarle al tubo estéril 1 ml de solución fisiológica estéril y guardar en heladera. 8. Remover con alcohol 70 los restos de iodopovidona de la piel para evitar irritación local

Si se sospecha infección asociada a líquidos de infusión, enviar una muestra de la misma en frasco de hemocultivo.

#### **Criterios de rechazo**

No se procesarán catéteres que no vengan acompañados del hemocultivo periférico tomado simultáneamente. En caso de infección asociada a catéter implantable, enviar para cultivo el reservorio en frasco estéril. No se aceptarán catéteres de longitud menor de 3cm, ni aquellos que por su longitud queden expuestos al exterior del tubo en que se transportan.

#### **Catéter permanente**

- Tomar sangre a través del catéter en condiciones de esterilidad (retrocultivo).

- Colocar en un frasco de hemocultivo.
- Tomar el mismo volumen de sangre a través de una vena periférica, según las instrucciones de toma de muestra del hemocultivo.
- Debe usarse el mismo tipo de frasco para periférico y retrocultivo y remitirse juntos.
- Si el catéter tiene varios lúmenes aclarar a cuál corresponde cada frasco.
- Enviar a cultivo el reservorio, en caso de catéteres implantables que sean removidos.

## **Procesamiento de la muestra**

### **Maki**

La técnica Maki evalúa la superficie externa de la punta del catéter.

Para realizarlo se debe tomar la punta de catéter con una pinza esterilizada y rodarla 3 a 4 veces sobre la placa de agar sangre, luego colocar la placa en estufa con atmosfera de CO<sub>2</sub>.

Esta técnica no evalúa la vía endoluminal, es utilizado junto a la técnica de Brun Buisson para poder determinar el origen de la colonización. Punto de corte > 15 ufc.

### **Brun Buisson**

La técnica Brun Buisson se utiliza para evaluar la colonización endo y exoluminal, solo con este método es imposible detectar la vía de colonización.

La misma consiste en introducir el segmento del catéter en un tubo con 1 mL de agua destilada estéril, tras un minuto de agitación en un vórtex siembran 0,1 mL de la suspensión en una placa de agar sangre luego se coloca la placa dentro de la estufa con atmosfera de CO<sub>2</sub>, el punto de corte es > 1000ufc/ml.

### **Diferencial de tiempo**

La técnica diferencial de tiempo se utiliza para determinar si la bacteriemia está asociada al catéter (BCR) o no.

La misma consiste en extraer sangre a través del catéter y de una vena periférica, luego se inocula en frascos de hemocultivo. Se debe extraer la misma cantidad de sangre de

ambos sitios e inocular en el mismo tipo de frasco, luego se coloca en el equipo al mismo tiempo. Punto de corte: >120 min BRC. 100-75 BRC dudosa. <75 min no BRC.

## **Urocultivos**

### **Recomendaciones Generales**

- Recoger la primera orina de la mañana, para que permanezca en la vejiga toda la noche, pero si la urgencia del caso o la situación particular lo justifica se puede realizar la recolección con una retención mínima de 3 horas. Esta medida disminuye el número de falsos negativos
- No se debe forzar la ingesta de líquidos para que el paciente realice la micción. Una toma excesiva de líquidos diluye la orina y disminuye el recuento de colonias por mililitro
- No tomar antibiótico previo a la toma de la muestra, o suspenderlo mínimamente 48 horas antes, si esto no es posible indicar en la orden el antibiótico y fecha de inicio del tratamiento.
- En todos los casos: utilizar para la higiene agua potable y jabón nuevo.
- La recolección de orina se debe realizar en un recipiente de plástico estéril, de boca ancha, sin fugas y el paciente debe cerrarlo correctamente
- No recoger nunca la orina de un recipiente (“chata”, “papagayo”, etc.), donde el paciente haya realizado la micción previamente.
- Indicar siempre el método de obtención. Esto es indispensable para el procesamiento y evaluación de los resultados

### **Instructivo para la recolección de orina para urocultivo**

#### **Adolescentes niños y niñas con control de esfínteres.**

Recolectar la primera orina de la mañana (retención mínima de 3 horas) en un frasco estéril destinado para tal fin (se adquiere en farmacia).

### **Procedimiento:**

- Lavar la zona genital con agua y jabón (niñas: de adelante hacia atrás/niños: tirando la piel que cubre la punta del pene hacia atrás/adolescentes que ya tuvieron su primera menstruación: de ser posible colocar un tampón vaginal). Enjuagar con abundante agua para eliminar los restos de jabón. Secar con toalla limpia.
- Destapar el frasco estéril al momento de recolectar la orina evitando tocar con las manos el interior del mismo.
- Eliminar el primer chorro de orina y recolectar la fracción siguiente en el frasco estéril. Tapar rápidamente el frasco evitando tocar el interior del mismo o de la tapa.
- Colocar en el frasco: nombre, apellido y DNI del paciente.
- Conservar en la heladera hasta el momento de llevarlo al laboratorio.

### **Niñas y niños sin control de esfínteres**

Recolectar la orina en un frasco estéril destinado para tal fin (se adquiere en farmacias).

No se aceptan muestras obtenidas con bolsa recolectora

### **Procedimiento:**

- La persona que tomará la muestra debe lavarse las manos con agua y jabón.
- Lavar la zona genital del bebé con agua y con jabón (niñas: de adelante hacia atrás). Enjuagar con abundante agua para eliminar los restos de jabón. Secar con toalla limpia.
- Destapar el frasco estéril al momento de recolectar la orina evitando tocar con las manos el interior del mismo.

- Esperar que el bebé orine y recolectar la orina en el frasco estéril (dentro de lo posible descartar las primeras gotas de orina). Tapar rápidamente el frasco evitando tocar el interior del mismo o de la tapa.
- Si el bebé no orina dentro de los 30 minutos repetir el procedimiento de higiene.
- Colocar en el frasco: nombre, apellido y DNI del bebé.
- Conservar en la heladera hasta el momento de llevarlo al laboratorio.

## **Pacientes con sonda vesical**

### **Sonda intermitente**

En algunas ocasiones, como en niños, pacientes con vejiga neurogénica, etc., es necesario realizar un sondaje vesical para recolectar la orina. En estos casos, la técnica debe ser realizada por personal entrenado y con métodos **asépticos** para evitar el riesgo de introducir microorganismos en la vejiga.

- Se debe utilizar sonda nueva estéril
- Una vez introducida la sonda, desechar los 15-30 ml iniciales de orina y recoger la porción siguiente
- Recoger la orina en un tubo de plástico estéril o en un recipiente estéril de boca ancha

### **Sonda permanente (sonda tipo Foley o “doble J”)**

- De ser posible, cambiar la sonda por una nueva
- Nunca tomar la orina que fluye por la punta de la sonda ni pinzarla para provocar retención
- Colocarse guantes estériles
- Desinfectar la tubuladura con alcohol 70 %
- Punzar con aguja mosquito y jeringa estéril a 10 cm del meato urinario, en la zona del cono para evitar la punción del sistema del balón fijación
- Recoger entre 5 a 10 ml de orina
- Transferir el material obtenido en el frasco o tubo estéril
- Nunca tomar material de la bolsa de drenaje
- No cultivar la punta de sonda vesical

No son adecuadas para urocultivo, las muestras de orina tomadas con “anexo” o sondas tipo uroset.

## **Transporte**

Remitir la muestra inmediatamente al Laboratorio, si esto no es posible mantener refrigerado en la heladera a fin de evitar la multiplicación bacteriana. No congelar.

Identificar el frasco con nombre apellido, documento y/o cama/sala del paciente, y la hora en que se recolecto. Para el traslado, colocar el frasco en un recipiente con hielo (especialmente los días cálidos).

Puede conservarse hasta por 24 horas en heladera (2-8°C).

## **Punción supra púbica**

Este método es para el diagnóstico de infección urinaria en niños pequeños, cuando los resultados de los cultivos de orina obtenidos por otros métodos son de difícil interpretación o cuando se sospechan como causa de infección bacterias anaerobias.

## **Toma de muestra.**

- Antes de realizar la punción se debe asegurar de que la vejiga esté llena y se pueda palpar
- Proceder a desinfectar la zona
- Punzar piel sana (evitando escaras o dermatitis) con aguja y jeringa estéril. Recolectar en el frasco adecuado o mantener en jeringa con obturador estéril, (sin aguja) si sospecha anaerobios

## **Transporte**

Remitir la muestra inmediatamente al laboratorio.

No refrigerar.

## **Procesamiento de la muestra**

Luego de recibida la muestra se realiza una observación del sedimento urinario para determinar si existen signos de inflamación en la muestra (sedimento patológico).

El procedimiento para preparar el sedimento urinario es el siguiente.

- Se toman idealmente 10ml de la muestra de orina y se colocan en un tubo cónico (falcon).
- Se centrifuga la muestra a 2000rpm durante 5 minutos.
- Se descartan 9ml del sobrenadante.
- Se resuspende el pellet, se coloca una gota sobre el portaobjetos y se coloca el cubreobjetos.
- Luego se examina la muestra preparada en microscopio a 40x.

## **Procedimiento de siembra**

- Las placas que se utilizarán en la siembra deben estar a temperatura ambiente y sin evidencia de humedad.
- Rotular las placas con identificación del paciente y fecha o colocar etiquetas de código de barras.
- Esterilizar el ansa flameando en el mechero hasta que se ponga rojo vivo. Dejar enfriar. Alternativamente utilizar ansa estéril descartable.
- Tomar el frasco con la muestra de orina, homogeneizar rotando ligeramente la muestra y luego abrir la tapa.
- Tomar muestra de orina con el ansa estéril introduciéndose en forma perpendicular a la orina. Retirar el ansa del frasco en forma vertical (no inclinar).
- Tapar el frasco con la muestra e inocular media placa de agar CLDE realizando 3 estrías.
- Esterilizar el asa de siembra en el mechero.
- Incubar las placas a 35°C en condiciones aeróbicas por al menos 18 horas.

## **Coprocultivo**

### **Toma de muestra**

- La muestra debe tomarse de preferencia en los primeros 5 días de la enfermedad ya que pasado este tiempo la excreción del agente disminuye.
- En lactantes invertir el pañal para que no se absorba la materia fecal.
- Luego se recolecta una porción preferentemente de partes con sangre o mucopurulentas en tubo seco estéril de boca ancha (frasco de urocultivo) o medio de transporte Cary Blair.
- No refrigerar

### **Procesamiento de coprocultivo**

- Anotar el aspecto macroscópico de las heces: presencia de sangre, mucus o pus, materia formada, semisólida o líquida.
- Realizar un frotis de la sección más representativa del proceso infeccioso y teñir con azul de metileno para examinar presencia de leucocitos fecales. En su defecto, buscar leucocitos por examen en fresco con una gota de azul de metileno.
- Sembrar cada muestra en placas de agar Mac Conkey Lactosa (McL), agar Salmonella-Shigella (SS) y según sospecha de campylobacter en medio selectivo para el mismo (Skirrow).
- Se realiza una toma con ansa de la zona más representativa de la muestra (aquella que tenga sangre, mucus o pus). O se descarga el contenido del hisopo que viene en Cary-Blair.
- Se realiza una descarga en la zona 1, luego quemando el ansa o cambiando de ansa si se trabaja con ansas descartables, se continúa la siembra por cuadrantes.
- También puede realizarse una suspensión con suero fisiológico de la toma con ansa y luego sembrar por cuadrantes.
- A un tubo de 10 ml de tetracionato agregar 1 gramo o 1 ml de suspensión de materia fecal o el contenido del hisopo.
- Incubar las placas y caldo de enriquecimiento durante 24 horas, en aerobiosis, a 35°C – 37°C.

- La lectura a las 24 horas resulta imprescindible para evitar el sobrecrecimiento de otros microorganismos presentes en la muestra, el aumento desmedido del poder inhibitorio de los medios selectivos y la correcta interpretación de la fermentación de azúcares (algunas especies bacterianas pueden virar después de 24 horas).
- Estudiar por separado entre 3-5 colonias sospechosas de *Salmonella* sp. o *Shigella* sp. Aisladas desde las placas de cultivo primario (numerar de 1 a 5). Obtener un cultivo puro.
- Las colonias sospechosas de *Shigella* sp. son lactosa negativas y se ven transparentes en McL y SS o verdes/azules en HE.
- Las colonias sospechosas de *Salmonella* sp son lactosa negativas y H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>; y se ven transparentes en McL, transparentes con precipitado negro en el centro en SS, y verdes/azules con precipitado negro en el centro en HE.
- También pueden identificarse colonias sospechosas de *Yersinia* sp. como colonias pequeñas, puntiformes a las 24 horas, lactosa negativas, que se ven transparentes en McL y SS.

### **Investigación de *Campylobacter* sp.**

Examen directo: Teñir con tinción de Gram modificada donde en último paso se utiliza fucsina en vez de safranina. Se busca la presencia de bacilos Gram negativos de morfología curva o en forma de gaviota, característicos de *Campylobacter* sp. Esta técnica tiene una sensibilidad reportada entre 60 a 90 % y puede ser de utilidad.

Detección antigénica: Para la investigación de *Campylobacter* sp. puede utilizarse test de detección de antígenos directamente en la muestra de heces. Seguir las indicaciones del fabricante.

Cultivo: se realizará en agares selectivos para *Campylobacter* sp., la incubación se hace en atmósfera microaerófila y a 42°C por 72 horas. En agar Campy CVA (cefoperazona, vancomicina, anfotericina B) las colonias sospechosas de *Campylobacter* sp. son grises, puntiformes, chatas o mucoides.

Realizar coloración de Gram para confirmar la morfología curva o en forma de gaviota y test de la oxidasa que deberá ser positiva.

## **Examen coproparasitológico**

### **Toma de muestra**

#### **Examen parasitológico de muestra seriada de materia fecal**

- Las muestras de materia fecal deben ser recogidas en un recipiente limpio (balde o palangana). No recoger las muestras del inodoro, evitar la contaminación con la orina).
- Tomar 1 cucharadita pequeña de materia fecal por día, durante 6 días y colocarla en uno de los frascos con el conservante y mezclarlas, siempre en el mismo, en total este frasco debe contener 6 muestras.

El periodo en el que se recolectan las muestras no debe ser mayor a 15 días.

Si usa pañales y esta con diarrea, colocar el pañal con la parte plástica hacia adentro en el momento de recolectar la muestra (se evita que la materia fecal sea absorbida por el pañal).

Durante los días que dura el estudio evitar consumir aceites, grasas, fritos, manteca, hollejos de frutas, choclo y alimentos muy fibrosos. -No colocarle supositorios, pomadas anales o tal.

#### **Muestras inadecuadas**

Muestras que no respeten la relación 3:1 entre conservante y materia fecal (3 partes de conservante y 1 parte de materia fecal). Muestras no adecuadamente homogeneizadas.

#### **Escobillado anal**

- La muestra debe ser tomada por la mañana, antes de bañarse, orinar y/o defecar. No colocar pomadas o talco en la región anal la noche anterior.
- Tomar la gasa provista por el laboratorio y pasar la misma por la región perianal, luego introdúzcala en el frasco.
- Repita el procedimiento durante 6 días.

#### **Criterio de rechazo**

No son aptas para procesamiento muestras con presencia de materia fecal.

## **Procesamiento del examen coproparasitológico**

### **Examen directo en fresco:**

Sera solicitado oportunamente por el profesional a cargo del sector según considere necesario.

No enviar rutinariamente.

Debe remitirse de inmediato, antes de los 30 minutos de contrario carece de valor.

### **Técnica de enriquecimiento:**

El enriquecimiento tiene por finalidad la concentración de los elementos parasitarios, aumentando la sensibilidad de la observación cuando su número es escaso y escapa a la detección del examen directo.

### **Enriquecimiento por sedimentación. Método de Ritchie.**

- En un frasco de boca ancha, tenemos que mezclar aproximadamente 1 gramo de heces (o una porción de muestra de 1 cm de diámetro) con 9 volúmenes de solución fisiológica. Se disgregan con una varilla de vidrio hasta obtener una suspensión homogénea.
- Filtrar la suspensión a través de una doble gasa colocada en embudo, la suspensión se recoge en un tubo cónico (15 ml)
- Centrifugar la suspensión por 5 minutos a 2500rpm
- Descartar el sobrenadante, luego agregar 5ml de solución fisiológica (SF) para re suspender el sedimento el sedimento. Agregar SF hasta enrasar el tubo.
- Añadir 2ml de solución de éter y agitar vigorosamente un minuto.
- Centrifugar el tubo por 2 min.
- Descartar el sobrenadante. Proceder a realizar la microscopia.

### **Escobillado anal:**

- En el frasco de boca ancha homogenizar, agitando en forma circular, el conservante con las gasas.
- Colocar el conservante en un tubo cónico (15ml).

- Centrifugar por 5 minutos a 2500rpm
- Examen macroscópico.

### **Parasitológico seriado:**

- Con una pipeta Pasteur resuspender el sedimento obtenido con SF y colocar una gota en un portaobjeto.
- Colocar una gota de Lugol y mezclar. Colocar un cubreobjeto y realizar la microscopia.
- Observe en objetivo 10X y luego 40X.

### **Test de Graham:**

- Con una pipeta Pasteur resuspender el sedimento obtenido con SF y colocar una gota en un portaobjeto. Colocar un cubreobjeto y realizar la microscopia.
- Observe en objetivo 10 X y luego 40 X.

### **Resultados**

Durante la pasantía en el hospital se tomó nota de los errores en las diferentes áreas del laboratorio y etapas de los procedimientos.

### **Errores en muestras respiratorias**

Se recibieron 154 muestras en sector de las cuales 10 muestras fueron rechazadas por ser muestras no aptas para cultivo, 26 muestras dieron como resultado flora polimicrobiana, lo cual en pacientes sin patologías concomitantes se considera contaminación con flora habitual orofaríngea, 2 muestras mal rotuladas fueron descartadas durante la lectura de placas, 2 muestras no se analizaron por errores en la siembra (placa mojada, chorreada), y 3 muestras mal identificadas durante el proceso de rotulación.

Por consiguiente, fueron detectados 43 errores, lo que constituye un 27.92% del total de las muestras que se recibieron (gráfico 1a), siendo un 23.38% en la fase preanalítica y un 4.54% en la fase analítica. Por lo tanto, de los errores totales en muestras respiratorias, el 83.72% de los mismos se dan en la fase preanalítica y el 16.28% en la fase analítica (Gráfico 1b)

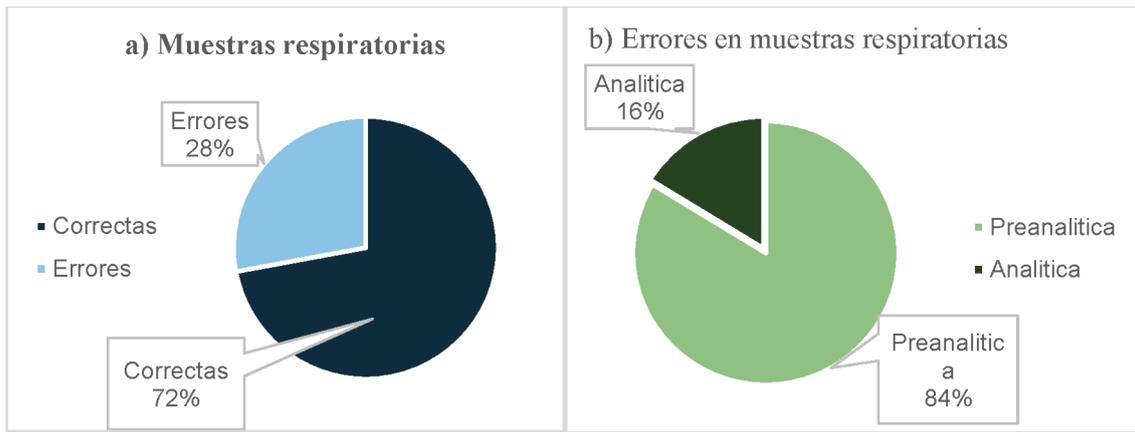


Gráfico 1. a) Muestras respiratorias ingresadas b) Distribución de errores en las diferentes etapas.

## Errores en hemocultivos

Se recibieron 96 muestras para hemocultivo, de las cuales 22 fueron positivas, de las muestras positivas 6 de ellas dieron como resultado patógenos que son considerados flora contaminante, 4 de las muestras ingresadas durante la noche no estaban identificadas en el equipo por lo que debieron ser descartadas y solicitar nueva muestra.

Los 10 errores observados constituyen un 10.46% del total (Gráfico 2a), siendo un 60% en la etapa preanalítica y un 40% en la etapa analítica (Gráfico 2b).

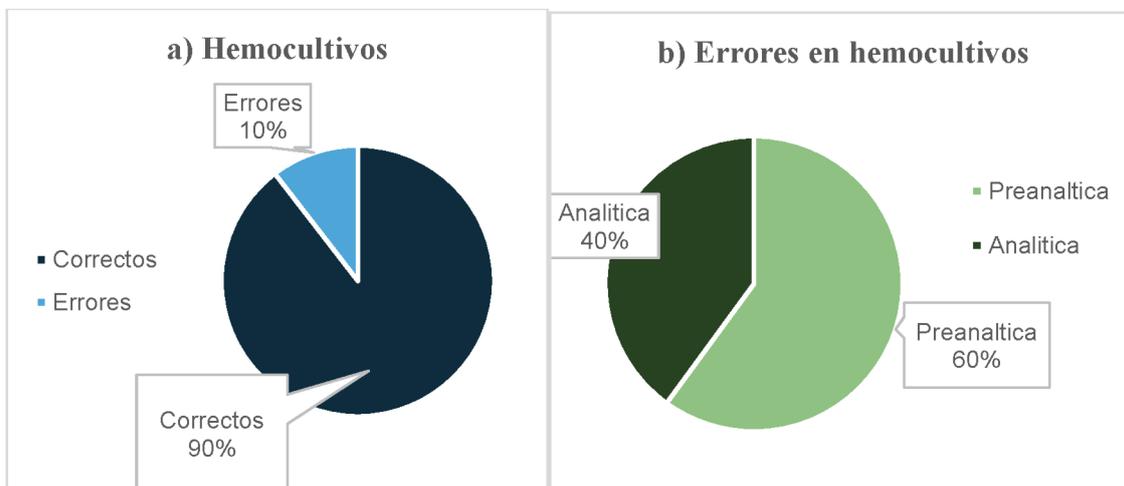


Gráfico 2. a) Muestras hemocultivos ingresadas b) Distribución de errores en las diferentes etapas.

## Errores en urocultivo

Se recibieron 107 muestras de las cuales 6 muestras fueron rechazadas por remitirse en envases inapropiados, 2 muestras mal rotuladas (en la misma placa con etiquetas invertidas) este error fue detectado gracias a la interpretación del sedimento en el cual

uno era patológico y el otro no lo era, y no coincidían con los resultados, por lo que se solicitó una muestra que lo confirmo, 28 muestras dieron como resultado flora polimicrobiana lo cual se interpreta como contaminación por mala toma de la muestra.

Lo anterior da un resultado de 36 errores detectados los cuales representan el 33.64% del total (Gráfico 3a), siendo el 31.78.% en la etapa preanalítica y el 1.87% en la etapa analítica. Con esto quedaría que el 94.45% de los errores totales se dieron en la etapa preanalítica y el 5.55% en la etapa analítica (Gráfico 3b).

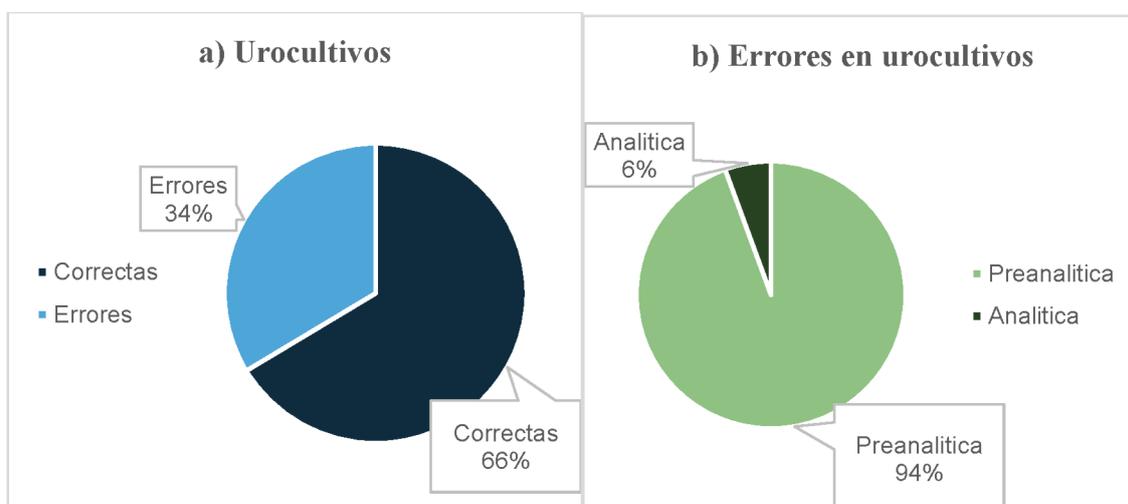


Gráfico 3. a) muestras para urocultivos ingresadas b) Distribución de errores en las diferentes etapas

### Errores en coprocultivo.

En el sector fueron recibidas 62 muestras para análisis de las cuales 4 muestras fueron rechazadas por no ser aptas para cultivo (heces formes) y 1 muestra fue extraviada luego de ser recibida. Esto da como resultados una frecuencia de errores del 8.06% (Gráfico 4a) siendo 6.45% en la etapa preanalítica y 1.61% en la etapa analítica, a su vez de los errores cometidos un 80% corresponden a la etapa preanalítica y un 20% a la etapa analítica (Gráfico 4b).

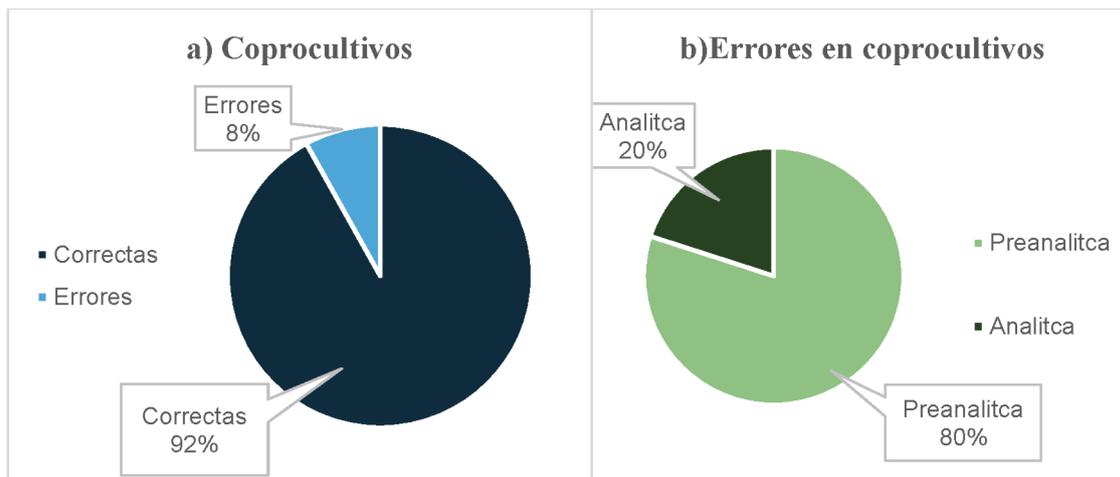


Gráfico 4. a) muestras para coprocultivos ingresadas b) Distribución de errores en las diferentes etapas

### Errores en el coproparasitológico.

En este sector se recibieron 21 muestras de las cuales 2 se rechazaron por estar mal tomadas, en una se descartó el conservante y en otra, restos de materia fecal en gasas para realizar test de Graham. No se observaron errores en las fases analítica. Este sector no se va a incluir en siguientes cálculos ya que el tiempo de rotación por este sector fue escaso.

### Errores totales

Con los resultados hallados se puede concluir que de 419 estudios ingresados en el sector de microbiología (muestras de material respiratorio hemocultivos, urocultivos y coprocultivos) se detectó un total de 99 errores (23.62%) en el proceso diagnóstico (Gráfico 5a), de los cuales, 85 (20.29%) fueron en la etapa preanalítica y 14 (3.34%) en la etapa analítica. Por lo tanto, de los errores totales, el 85.86% se dieron en la etapa preanalítica y 14.14% en la etapa analítica (Gráfico 5b). En el gráfico 6 se puede observar la distribución de errores por etapa y por sector.

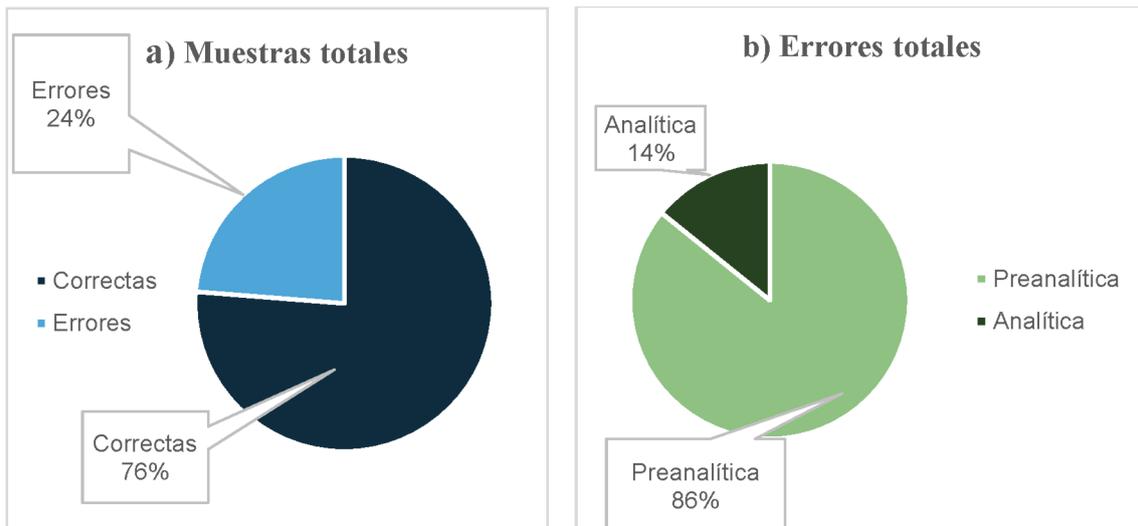


Gráfico 5. a) muestras totales ingresadas b) Distribución de errores en las diferentes etapas



Gráfico 6. Distribución de errores por etapa y por sector.

## **Discusión.**

Hay pocos estudios que evalúen errores en las diferentes etapas del diagnóstico de laboratorio y la mayoría de este tipo de estudios fueron realizados en el laboratorio de bioquímica clínica.

Cabe aclarar que por limitaciones del estudio realizado no se pudo evaluar los posibles errores en la etapa postanalítica, ya que para detectar estos es necesario realizar un seguimiento de los casos, analizar reportes médicos o evaluar el criterio de los bioquímicos en la toma de decisiones, todo esto estaba fuera de alcance al realizar el estudio o no correspondía hacerlo, debido a esto no se va a incluir el análisis de errores de la etapa postanalítica en el presente estudio.

De todos modos los resultados encontrados en este estudio coinciden de manera general con los hallados por *Asitava Deb Royenlos* (Asitava Deb Roy, 2019) cuales se vio que los errores (sin considerar la etapa postanalítica) en la etapa preanalítica fue 79% y del 21% en la etapa analítica, sin embargo en este estudio se detectó un mayor porcentaje de errores (23.6%) frente al 1.4% observados en el artículo citado anteriormente (Asitava Deb Roy, 2019), esto se puede deber a las diferentes metodologías utilizadas para realizar el trabajo. En otros estudios (M., 2006) también se detectó una distribución de errores similares a las halladas en este estudio, predominando los errores en la etapa preanalítica sobre la etapa analítica pero la frecuencia de errores (0.47%) fue mucho menor, se podría deducir que esta diferencia es debido a que el estudio mencionado (*Plebani M.2006*) fueron elaborados en el sector de bioquímica clínica en donde el proceso analítico está bien controlado, ya que la mayoría se realizan en equipos automatizados reduciendo así el error humano.

La mayor cantidad de errores se corresponde con las muestras de urocultivos más precisamente con la etapa preanalítica de estos. Esto podría ser debido a que la mayoría de los urocultivos eran de pacientes ambulatorios y a la dificultad en tomar este tipo de muestra en pacientes pediátricos.

También se observó que muchas solicitudes de estudio no contaban con el diagnóstico presuntivo y/o patología/s de base, lo cual es una fuente de posibles errores en el diagnóstico microbiológico y en el informe de resultados, ya que el mismo ayuda a una correcta interpretación de los resultado por parte del profesional bioquímico.

Es relevante mencionar que el laboratorio participa del control externo del Programa de Evaluación Externa de Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina (PEEC) y realiza controles internos con cepas ATCC, lo que permite reducir y corregir errores en la etapa analítica y postanalítica.

## **Conclusión**

En el presente estudio, se observó que en el sector de microbiología del hospital Pedro de Elizalde la mayor cantidad de errores provienen de la etapa preanalítica, debido a esto se propusieron diferentes medidas para intentar reducirlos:

Modificar los instructivos de toma de muestra haciéndolos más detallados y fáciles de entender incluyendo ilustraciones, ya que en algunos casos las personas que trajeron muestras al laboratorio declararon no saber leer o no comprender los instructivos.

Reentrenar al personal en el proceso de etiquetado e identificación de las muestras.

Realizar un seguimiento y documentación de errores y análisis de causas.

Además, se vio necesario remarcar la importancia de que en la solicitud de estudios el medico indique el diagnostico presuntivo y la patología/s de base si la hubiera.

Si bien no se pudo evaluar la etapa postanalítica se observó una excelente comunicación entre los bioquímicos microbiólogos y los médicos infectología del hospital, según apreciaciones del personal involucrado esto facilita y agiliza el rápido diagnóstico y tratamiento del paciente internado además de permitir intercambio de conocimientos e ideas lo cual lleva a una mejora constante del servicio brindado por el laboratorio.

Finalmente, para concluir, se puede decir que evaluar, registrar y corregir los errores que ocurren en el laboratorio de microbiología ayuda a que se puedan definir estrategias de mejoras para garantizar resultados correctos a los pacientes, y por lo tanto, una mejor atención, así como también, una disminución de la morbimortalidad en las patologías causadas por microorganismos.

## **Bibliografía**

- Asitava Deb Roy, D. D. (2019). An Evaluation of the Errors Occurring in Pathology and Microbiology.
- Bacteriología-REDLAB-GCBA, I. d. (2017). Recolección, transporte y conservación de muestras bacteriológicas. Buenos Aires.
- Bonini P, P. M. (2002). Errors in laboratory. 48.
- Dra. Margareta Mühlhauser P., T. L. (2014). Laboratorio de Microbiología: Conocimientos Básicos para un clínico. *REV. MED. CLIN. CONDES*, 569-579.
- Dra. Laura Cabezas, D. L. (218). Manual de recolección, procesamiento e interpretación de cultivos en muestras clínicas obtenidas para estudio bacteriológico. Hospital de Clínicas "Dr. Manuel Quintela", Montevideo, Uruguay: Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria".
- M., P. (2006). Errors in clinical laboratories or errors in laboratory? 44(750-9).
- Rolando Soloaga, C. A. (2013). *Los errores más frecuentes en el laboratorio de Microbiología Clínica : manual para detectar, comprender y minimizar los errores en el diagnóstico microbiológico clínico*. Buenos Aires: Editorial Brujas.
- Winn W., A. S. (2006). *Diagnóstico microbiológico*. USA: Panamericana.
9. *Minimización de errores preanalíticos y su repercusión en el control del laboratorio clínico* San Miguel Hernández A. Rev Lab Clin. 2017.
10. [apelizalde.org/actividades/Mayo%206%20Normas%20Extraccion%202014.pdf](http://apelizalde.org/actividades/Mayo%206%20Normas%20Extraccion%202014.pdf)
11. *Errores en el laboratorio clínico*. Ruth Cano Corres, Xavier Fuentes Arderiu. <https://www.ifcc.org/media/214854/Errores%20en%20el%20laboratorio%20cl%C3%ADnico.pdf>
12. Angela M. R. Famiglietti, Carlos A. Vay, Beatriz E. Perazzi, Marisa Almuzara, Claudia Barberis, Susana García, Carlos Hernán Rodríguez, Marcela Nastro, Maria Lorena Canteros, Glenda Guzmán, Mirta Losada. *Guía de Procedimientos en Bacteriología Clínica*, Microbiología. UBA, Buenos Aires. 2020.