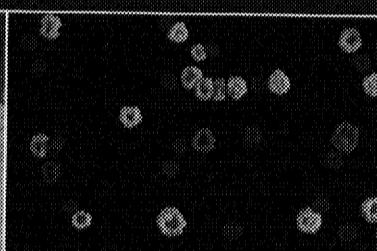
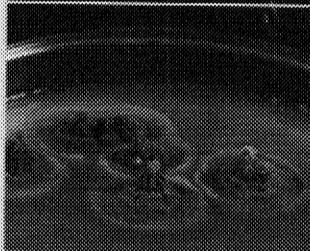


RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA



DRA. JEANNETE ZURITA



**Organización
Panamericana
de la Salud**

*Oficina Regional de la
Organización Mundial de la Salud*

REPRESENTACION ECUADOR

RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

JEANNETE ZURITA



AGRADECIMIENTO

La publicación de este libro fue posible gracias al aporte de la Organización Panamericana de la Salud y la Oficina de Desarrollo Regional Sostenible, Oficina para América Latina y el Caribe, Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional según lo acordado por ambas agencias en el subsidio No. Lac-G-99-00008-99."

Deseo expresar gratitud a algunos colegas y amigos que leyeron el original de esta edición y aportaron con valiosas observaciones: Greta Miño, Guillermo Falconi, Carlos Feijo, Eugenia Donoso, Jose Julio Letort, Diego Samaniego, Ana María Avilés, Lorena Arellano, Susana Rodríguez, Edith Marroquín, Héctor Montalvo, Patricia Andrade, María Dolores Carrillo, Marcelo Román y Gonzalo Zurita Herrera.

A los internos rotativos y residentes del Hospital Vozandes (2004-2005) por su lectura desinteresada.

Jeannete Zurita MD, MSc

Quito, 2004



I. SELECCIÓN DE UN ESPÉCIMEN REPRESENTATIVO DEL PROCESO INFECCIOSO	7
• Criterios para no procesar una muestra para estudio microbiológico	12
• Pruebas urgentes en microbiología	14
• Reporte del laboratorio de microbiología	15
• Función del médico microbiólogo en los hospitales	15
• Rol asistencial	16
• Rol en relación con el control de las infecciones hospitalarias	17
• Rol en la enseñanza e investigación	17
• Rol en la evaluación del trabajo y control de calidad	17
II. INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR	19
• Faringitis	20
• Procesamiento de la muestra	26
• Investigación de <i>Streptococcus</i> Beta hemolítico grupo A	27
• Pruebas rápidas que no requieren cultivo	29
• Pruebas serológicas	30
• Sinusitis	32
• Otitis	35
• Otitis media aguda (OMA)	35
• Timpanocentesis	35
• Procesamiento de la muestra	36
• Otitis media crónica	38
• Otitis externa	38
• Mastoiditis	39
III. INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR	41
• Bronquitis aguda	42
• Bronquiolitis	42
• Toma y transporte de la muestra nasofaríngea	43
• Exacerbación aguda de la bronquitis crónica	46
• Neumonía	48
• Neumonía nosocomial	51
• Esputo	52
• Procesamiento del Esputo	54
• Coloración Gram	55
• Coloración Ziehl-Neelsen	56
• Coloración Giemsa	57
• Examen en fresco	57
• KOH (Hidróxido de potasio al 40%)	58
• Blanco de calco-flúor	58
• Aspirado traqueal o secreción bronquial	58
• Procesamiento de la muestra de aspirado traqueal (AT)	59
• Lavado bronquial	61
• Lavado bronco-alveolar	61
• Cepillado bronquial protegido (CBP o PBB)	62
• Líquido pleural y empiema	64
• Biopsia pulmonar	66
• Cultivos	67
• Hemocultivos en neumonía	67
• Estudios en casos especiales	68
• Estudios para <i>Legionella</i>	68
• Estudios para <i>Chlamydia</i>	69
• Estudios para <i>Mycoplasma</i>	69
• Estudios para <i>Mycobacterium</i>	71
• Estudios para hongos	71
• Otras pruebas diagnósticas: detección de antígenos urinarios	71
• Neumonías virales	71
IV. INFECCIONES DEL TRACTO GASTROINTESTINAL	77
• Recolección y transporte de la muestra	78
• Muestras de heces para estudio parasitológico	79
• Muestras de heces para coprocultivo	81

• Transporte	86	VIII. INFECCION DEL TRACTO URINARIO	129
• Procesamiento	86	• Micción espontánea	134
• Muestras especiales	89	• Cateterización	135
• Biopsia rectal	90	• Pacientes con sonda vesical	135
• Aspirado duodenal	90	• Toma de la muestra en niños	135
• Método de la cuerda	91	• Transporte de la muestra	136
• Biopsia del antro gástrico para <i>Helicobacter pylori</i>	91	• Procesamiento de la muestra	137
• Diarrea crónica	94	• Interpretación de los urocultivos	138
V. BIOPSIAS, MÉDULA ÓSEA Y OTROS TEJIDOS	99	IX. INFECCIONES DEL TRACTO GENITAL	143
• Tejidos postmortem	103	• Infecciones en la infancia	145
• Punción medular y biopsia por aspiración	104	• Toma de la muestra de secreción genital en la infancia	145
• Toma de la muestra. Aspirado de médula ósea	104	• Infecciones en la edad adulta	147
• Biopsia de médula ósea	105	• Bleenorragia o gonorrea	148
VI. EFUSIONES	107	• Infección de <i>Chlamydia trachomatis</i>	150
• Líquido peritoneal	108	• Pruebas rápidas	152
• Paracentesis	110	• Serología	153
• Toma de la muestra para lavado peritoneal diagnóstico	110	• Muestra obtenidas de piel y las membranas mucosas	153
• Líquido peritoneal de diálisis	111	• Toma de muestra para sífilis	153
• Líquido amniótico	112	• Campo oscuro	154
• Líquido pericárdico	113	• Test serológico para sífilis	154
• Pericardioplastia percutánea	114	• Toma de muestras para chancro blando (Chancroide)	155
VII. INFECCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	117	• Tinción Gram	156
• Procedimiento para la toma de muestra para LCR	120	• Toma de muestras para herpes genital	156
• Transporte del LCR	122	• Prueba de Tzanck	157
• Encefalitis	123	• Toma de muestras para granuloma inguinal	157
• Abscesos cerebrales	123	• Tinción Leishman, Wright o May-Grunwald-Gemsa	157
• Empiema subdural	124	• Examen de material de bubones	158
• Absceso epidural	125	• Aspirado de bubones	158
• Infecciones de válvulas de derivación y otros dispositivos	125	• Toma de muestras para estudios virales	158
• Antígenos bacterianos	126	• Toma de muestra de secreción vaginal en la mujer adulta	159
		• Cultivo de la secreción vaginal para otros estudios que no son infecciones de transmisión sexual (ITS)	161
		• Infecciones de la pelvis femenina	161

- Infecciones de órganos internos del tracto genital masculino 162

X. ENFERMEDADES MICÓTICAS 165

- Toma de muestras para infecciones micóticas superficiales 167
- Micosis subcutáneas 168
- Algoritmo para la toma y procesamiento de muestras 170
- Micosis profundas 171
- Vías respiratorias bajas 171
- *Pneumocytis jiroveci (carinii)* (PC) 172
- Vías urinarias 173
- Hemocultivos 173
- Micosis oportunistas 175

XI. INFECCIONES PARASITARIAS EXTRAIESTINALES 179

- Toma de muestra para diagnóstico de malaria 180
- Leishmaniasis 182
- Enfermedad de Chagas 183
- Toxoplasmosis 184
- Triquinosis 184
- Cisticercosis por *Taenia solium* 185
- Oncocercosis 185
- Tricomoniasis 186

XII. SISTEMA MÚSCULO ESQUELÉTICO 187

- Articulaciones 188
- Artritis séptica 188
- Líquido sinovial 189
- Bursas 193
- Bursitis séptica 193
- Piomiositis 194
- Fascitis necrotizante 196
- Osteomielitis 197

XIII. INFECCIONES CAUSADAS POR CATÉTERES INTRAVASCULARES 201

- Procesamiento para el diagnóstico microbiológico 205
- Métodos de cultivo que requieren el retiro del catéter 205
- Métodos de cultivo que no requieren el retiro del catéter 210
- Recomendaciones para catéteres de hemodiálisis 212

XIV. INFECCIONES OCULARES 215

- Conjuntivitis 216
- Queratitis 219
- Infecciones de las cámaras intraoculares 222
- Endoftalmitis 222
- Panofalmitis 222
- Uveitis 224
- Retinitis 224
- Infecciones del borde palpebral, blefaritis 224
- Infecciones del aparato lagrimal, dacrioadenitis, dacriocistitis y canaliculitis 225

XV. INFECCIONES DE LA PIEL 229

- Impétigo 230
- Ectima 231
- Foliculitis 231
- Forúnculo y carbunco 232
- Celulitis 234
- Erisipela 235
- Eritrasma 235
- Pie diabético y otras úlceras crónicas superficiales 235
- Úlceras de decúbito 237
- Infecciones sistémicas con manifestaciones dérmicas 237



I. SELECCIÓN DE UN ESPÉCIMEN REPRESENTATIVO
DEL PROCESO INFECCIOSO



La recuperación del agente etiológico del proceso infeccioso depende de la toma correcta de la muestra y del manejo adecuado de la misma. Las muestras clínicas que se recolectan de los pacientes probablemente contengan microorganismos vivos por lo que la toma y el transporte estarán dirigidos a:

1. La preservación de virus, bacterias, hongos y parásitos, para poder recuperarlos.
2. Evitar la contaminación de la muestra durante el transporte.
3. Evitar el contagio del personal que manipula la muestra.

El proceso de toma de muestra se inicia con un exhaustivo examen físico del paciente y una correcta elaboración de la historia clínica, para terminar cuando el informe del examen se adjunta a la historia clínica y el médico puede instaurar la terapia apropiada. En este proceso se han involucrado un sinnúmero de procedimientos y de individuos, como el paciente y los familiares; todo el personal de salud: médicos, enfermeras, auxiliares, residentes, internos rotativos, secretarías, personal del laboratorio, etc.

Una muestra para estudio microbiológico puede ser tomada por el propio paciente, como es el caso de una muestra de orina, heces o esputo cuando el paciente es ambulatorio. Si el paciente está hospitalizado las muestras pueden ser tomadas por el personal de salud, dependiendo de la complejidad de la toma. Las muestras respiratorias suelen ser tomadas por el personal de terapia respiratoria o enfermería, las muestras de orina y heces por el personal de enfermería. Hay muestras que re-

quieran mayor destreza y entrenamiento por lo que deben ser tomadas por el médico especialista, como es el caso de la punción lumbar para la obtención de líquido cefalo-raquídeo, una punción articular, una timpanocentesis, una punción suprapúbica u otro método invasivo. Las muestras ginecológicas serán tomadas por el gineco-obstetra, en el caso de varones con secreción uretral, úlceras genitales o muestras de orina previo masaje prostático, por el urólogo, etc. Actualmente también interviene en la toma de la muestra el médico de imagen. Por lo general, la toma de muestra que no es invasiva y no requiere una especialización anterior suele ser tomada, previo entrenamiento, por el médico residente, el interno, el personal de enfermería o del laboratorio, tal es el caso de hisopados faringo-amigdalinos, foliculitis, abscesos, etc. Por este motivo todos los involucrados en la toma y transporte del espécimen deben tener el conocimiento apropiado para realizar una toma y actuar con responsabilidad y rapidez.

Una buena toma de muestra se inicia con la decisión de qué material será representativo y adecuado para el estudio, continúa con escribir la respectiva solicitud del examen en la hoja del pedido en forma clara y legible, luego la toma de la muestra para ser transportada hasta el laboratorio, allí se realiza la recepción, el procesamiento y la emisión del resultado. Por lo tanto el espécimen del paciente debe pasar con éxito todo este largo proceso.

Existen algunas consideraciones con las cuales se debe manejar una muestra obtenida de un paciente¹, cualquiera que ésta sea:

1. Seleccionar adecuadamente el sitio anatómico de donde se va a obtener la muestra.
2. Tomar la muestra utilizando la técnica apropiada y correcta.
3. Colocar el espécimen en un recipiente adecuado y cerrarlo correctamente.
4. Transportar el espécimen al laboratorio lo más rápido posible, si va a demorar almacénalo pensando en que debe mantener vivos a los microorganismos que están posiblemente en la muestra.

Existen varias pautas generales para seleccionar una muestra para estudio microbiológico²:

1. La muestra debe ser representativa del proceso infeccioso.
2. La muestra debe ser recolectada con un mínimo de contaminación con la flora normal del sitio de la infección.
3. Debe ser recolectada en el momento apropiado y en lo posible sin tratamiento antimicrobiano.

El resultado final de un examen microbiológico dependerá de una toma correcta, un adecuado transporte y un procesamiento apropiado de la muestra obtenida del paciente. Si cualquiera de estos puntos no se cumple en forma precisa, los datos del laboratorio podrían ser erróneos y poco confiables.

La muestra debe ser representativa del proceso infeccioso. A pesar que es una premisa muy conocida, en muchas ocasiones es ignorada, pues con frecuencia llegan al laboratorio muestras no adecuadas y lo que se obtiene del estudio mi-

crobiológico probablemente no sea el agente etiológico del proceso infeccioso y el resultado confundirá al médico y podría inducir a una terapia inapropiada.

Ejemplos:

- Hisopado del orificio de una fistula, al cultivarlas se aislará probablemente microorganismos saprofitos colonizadores de la piel u otras bacterias que acaso el médico se vea tentado a tratarlos cuando en realidad el verdadero microorganismo patógeno se encuentre en la base de la fistula y cuya muestra debía haber sido tomada a través de una biopsia.
- El cultivo de una escara o úlcera externa mediante un hisopado de la superficie. En este caso la muestra correcta es del margen de la lesión. Un hisopado no es una muestra representativa y no es adecuado para cultivo debido a que se recuperará flora comensal.
- Hisopados para cultivos de secreciones óticas no tienen valor diagnóstico. El diagnóstico del agente etiológico de una otitis media es dado por el método invasivo timpanocentesis, que por lo agresivo y doloroso no se realiza con frecuencia.
- No son representativos los hisopados nasales para diagnóstico de sinusitis, lo que se obtiene en este cultivo es la flora colonizadora de la mucosa nasal.
- La muestra de esputo al igual que los aspirados traqueales pueden no ser representativos para aislar el agente etiológico de una neumonía (ver capítulo de infecciones del tracto respiratorio inferior).

La muestra debe ser recolectada con un mínimo de contaminación

CASO 1

Paciente de sexo femenino de 45 años de edad con una úlcera en miembro inferior izquierdo. La toma de muestra se realizó a través de un hisopado del lecho de la úlcera. Es una toma correcta? No, la toma de muestra en este caso debe ser a través de una biopsia del borde de la úlcera, si esto no es posible se puede realizar a través de una punción por aspiración del borde de la úlcera.

Figura 11

Frecuentemente se toman las muestras de este tipo de úlceras con hisopos, como podemos ver en este caso, lo cual es incorrecto.



con la flora normal del sitio de la infección.

Ejemplos:

- Para las muestras de orina debe el médico instruir al paciente como debe recolectar la muestra. Por lo general la orden del médico puede ser "recoja una muestra de orina sin contaminar" y no explica correctamente qué es lo que esto significa o asume que el/la paciente ya conoce el término "orina sin contaminar". El médico tratante es el responsable de informar a su paciente como debe recolectarla y llevar la muestra al laboratorio. Vea capítulo de infecciones de vías urinarias para una toma correcta.
- La muestra de sangre para hemocultivos debe ser tomada por personal entrenado. Los flebotomistas o personal encargado en la toma de los hemocultivos deben dominar la técnica sobre la desinfección de la piel y la zona de punción para evitar la contaminación del hemocultivo con las bacterias colonizadoras de la piel. Vea capítulo XVI de hemocultivos para la toma correcta.

- Al tomar la muestra de un exudado faringo-amigdalino debe evitarse el tocar la lengua o el paladar para no contaminar con la flora de mucosa oral.

La validación de una muestra de orina, chorro medio, puede ser cuestionada si hay numerosas células epiteliales de descamación que indican contaminación prepucial, vaginal o uretral.

Debe ser recolectada en el momento apropiado y en lo posible sin tratamiento antimicrobiano.

Lo ideal es tomar las muestras para cultivo antes de empezar la terapia con antimicrobianos. Esto no es siempre posible y puede dar lugar a interpretaciones erróneas.

Ejemplos:

- Las bacterias en LCR y en orina pueden ser negativizadas (si el antibiótico es apropiado) en 48 horas o menos de la toma de antibióticos.
- Hay pruebas serológicas que en fase aguda pueden ser negativas debido a

CASO 2

Paciente de 38 años de edad, sexo femenino que acude al servicio de emergencia con dolor lumbar y fiebre de 38°C. Entre otros estudios se solicita un examen de orina. Se indica a la paciente que recoja la muestra de orina y se envíe para un estudio "elemental y microscópico de orina" y si amerita urocultivo. En el sedimento urinario se observa:

10 a 15 leucocitos por campo.

5 a 10 células epiteliales de descamación vaginales por campo.

Bacterias +++ (Vea figura 1-2A)



Figura 1-2A

Para establecer si se trata de una infección de vías urinarias, es necesaria una coloración de Gram (Vea figura 1-2B). Si las bacterias observadas son bacilos Gram negativos podría tratarse de una infección de vías urinarias pero si el Gram indica Bacilos Gram positivos tipo Döderlein, se considerará una contaminación con flora genital. El hecho de encontrar bacterias en el sedimento urinario (sin colorear) no siempre es indicativo de infección urinaria, sobre todo cuando la toma fue realizada sin previo lavado genital prolijo.

que los anticuerpos aún no son detectables en el suero por las técnicas utilizadas.

- Una solicitud frecuente es la de VDRL cuando el paciente tiene aún el chancro. En sífilis primaria el VDRL es negativo, se vuelve positivo en sífilis secundaria cuando el chancro ha desaparecido.
- Otro error frecuente es solicitar aglutinaciones febriles durante la primera semana de fiebre ante la sospecha de Fiebre Tifoidea. Las titulaciones son positivas a partir de la primera semana de fiebre.
- Las pruebas que dosifican anticuerpos totales probablemente requerirán de una dosificación en fase aguda y otra en fase de convalecencia. Siempre se deben enviar estos sueros pareados, de

lo contrario una sola titulación no será de ayuda diagnóstica (leptospirosis, parvovirus, *Chlamydia*, etc)

Es de suma importancia que la hoja de pedido para exámenes microbiológicos cuente con un mínimo de datos que son indispensables para la orientación en la búsqueda del agente etiológico de la infección³. Por lo tanto en toda hoja de solicitud de exámenes microbiológicos debe constar lo siguiente:

- Nombre del paciente
- Edad
- Sexo
- Número de la historia clínica
- Número de habitación (si está hospitalizado)

- Dirección y teléfono (si es de consulta externa o ambulatorio)
- Nombre del médico y número de teléfono o dirección donde él pueda ser localizado.
- Sitio anatómico de donde se tomó la muestra.
- Fecha y hora de la recolección de la muestra.
- Diagnóstico clínico.
- Exámenes que solicita.
- Antimicrobianos que esté recibiendo el paciente.
- Datos clínicos relevantes o especiales en la historia clínica del paciente.

Al recipiente que contenga la muestra biológica se le debe pegar un adhesivo con los siguientes datos:

- Nombre del paciente:
- Número de habitación:
- Número de Historia Clínica:
- Médico que solicita:
- Sitio del cultivo:
- Fecha y hora de la recolección:

Es preciso escribir con letra clara y legible el nombre completo para evitar confusiones, aún si se dispone de código de barras para identificación. Si bien todas las muestras se manejan como potencialmente infecciosas es de ayuda que se registre la sospecha de un posible agente particularmente peligroso como es el caso de *Coccidioides* o *Mycobacterium tuberculosis* o Virus de la Hepatitis. Indicar el sitio anatómico de donde se recolectó la muestra. Es muy frecuente recibir muestras con la rotulación "pus" sin especificar el origen de la muestra, igual sucede con "absceso" o que rotulen "herida" sin especificar si se trata de una herida quirúrgica, un traumatismo

o una mordedura. Indique si la herida es superficial o profunda, la orientación de la búsqueda de microorganismos es distinta para cada una de ellas. La fecha y hora son necesarias para validar la muestra e interpretar los hallazgos adecuadamente.

CRITERIOS PARA NO PROCESAR UNA MUESTRA PARA ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

En general las muestras que se reciben en el laboratorio de microbiología son de pacientes ambulatorios de la consulta externa, de pacientes hospitalizados en los diversos servicios o departamentos y del personal del hospital. En el primer caso el paciente es el que trae la muestra y los errores se suelen aclarar en el momento de la recepción de la muestra. En el caso de los pacientes hospitalizados estas muestras por lo general son transportadas por un personal previamente establecido, y son las que más dificultades suelen presentar. Si la muestra no cumple con las normas establecidas en la recolección y transporte, éstas no deben ser procesadas. Algunos de los problemas más frecuentes se encuentran descritos en el cuadro I-1. Sin embargo hay que tener criterio para el rechazo de una muestra, sobre todo si es un espécimen que ha sido recolectado con un método invasivo y no es posible tomarla de nuevo; es necesario comunicarse con el clínico para tomar una decisión. Por lo tanto es fundamental que el Laboratorio de Microbiología, cuente con un manual de normas y que esté al alcance de todos. Además debe establecer y difundir a los servicios, los requisitos necesarios para la toma y envío de una muestra para estudio microbiológico.

Tabla I-1. Criterios para no procesar una muestra para estudio microbiológico

CRITERIO PARA NO PROCESAR	MEDIDA CORRECTIVA
Recipiente que contiene la muestra no está identificado.	<p>Telefonee al médico, o a la enfermera, o a la secretaria del servicio. Si no hay respuesta repita la llamada.</p> <p>Procese la muestra, pero no emita el informe hasta que haya sido aclarado o notificado el médico.</p>
Discrepancia entre el nombre escrito en la hoja de solicitud y el nombre puesto en la etiqueta del recipiente.	<p>Telefonee al médico o a la enfermera o a la secretaria del servicio. Si no hay respuesta repita la llamada.</p> <p>Si no se logra aclarar el error, descarte la muestra.</p> <p>Procese la muestra únicamente cuando haya sido corregido la discrepancia y notificado el médico.</p>
Muestra derramada sobre la hoja de pedido.	<p>Solicite otra muestra. Coloque todo en una bolsa y envíela al autoclave (muestra y pedido). En el caso de no ser posible volver a recoger una muestra, desinfecte externamente el envase o trasvase la muestra a un contenedor estéril.</p>
Muestra adecuada en un envase inapropiado (esputos en recipientes caseros, orinas en botellas de refresco, muestras envueltas en guantes)	<p>No procese. Solicite otra muestra.</p>
Muestra en un envase con evidencia de filtración, roto o con evidencia de no estéril	<p>Solicite otra muestra.</p> <p>Coloque todo en una bolsa y envíela al autoclave.</p>
Hisopos secos o sin medio de transporte	<p>Comuníquese con el médico o la enfermera para indicar la norma correcta: "Envíe en medio de transporte"</p> <p>Solicite otra muestra si la condición clínico lo justifica.</p>
Muestras de orina o esputo de 24 horas para micobacterias u hongos	<p>Comuníquese con el médico o la enfermera para indicar la norma correcta.</p> <p>Envíe por escrito la norma</p>
Esputo para cultivo bacteriano con más de 25 células epiteliales por campo	<p>Indique que la muestra no es apropiada para cultivo.</p> <p>Dependiendo del caso solicite otro.</p>
Orina con signos de contaminación con secreciones vaginales o fecal.	<p>Solicite otra muestra</p>
Sondas Foley'	<p>No procese. Envíe por escrito la norma.</p>
Muestras obtenidas a través del tubo torácico	<p>No procese. Envíe por escrito la norma.</p>
Cultivo para anaerobios de heces.	<p>No procese. Envíe por escrito la norma.</p>
Líquidos en tubos con tapones de algodón	<p>Solicite otra muestra si hay signos de que el tapón esta mojado. No acepte esputos, sangre, LCR, ni muestras para estudios virales en este tipo de envases.</p> <p>Envíe la norma por escrito.</p>
Cantidad insuficiente	<p>Si hay varias solicitudes de pruebas y no es suficiente la cantidad de muestra comuníquese con el médico para establecer que es prioritario.</p>
Muestras enviadas en soluciones "salinas para inyección"	<p>Solicite otra muestra, pues estas soluciones contiene sustancias antimicrobianas</p>

El Laboratorio de Microbiología tiene la responsabilidad de no procesar la muestra si considera que no cumple con las normas establecidas, por este motivo todos los departamentos o servicios hospitalarios deben conocer las normas y se debe proporcionar hojas explicativas a los pacientes de consulta externa, como recolección de muestra de orina, heces, esputo, etc. Es importante insistir que el rechazar una muestra no es una actitud en contra del médico o de la enfermera, es simplemente que el resultado obtenido del procesamiento de una muestra obtenida o transportada inadecuadamente no aportará información relevante y será una pérdida de tiempo y dinero. Una buena práctica es enviar al casillero del médico, o indicar a la enfermera cuando ha enviado una muestra inapropiada, la norma con el respectivo sustento bibliográfico.

Existe otro tipo de muestras que también suelen dar problemas debido a que por lo regular son tomadas mediante hisopado. En tales casos debe rechazarse y solicitar una biopsia o aspirado. Dentro de este grupo están: abscesos perirrectales, lesiones gangrenosas, quemaduras, úlceras varicosas, úlceras de decúbito, lesiones orales, linguales y periodontales

Es una norma microbiológica que las muestras que den información cuestionable no deben ser procesadas, dentro de este grupo están: sondas Foley, vómito, contenido intestinal, descargas de colostomías, loquios, aspirados gástricos de neonatos⁶.

PRUEBAS URGENTES EN MICROBIOLOGÍA

Una muestra considerada de procesamiento "urgente" es aquella que representa una infección que atente con la vida del paciente, así que el resultado del examen realizado debería entregarse dentro de los 30 o 40 minutos posteriores a la recepción de la muestra en el laboratorio. Si no se dispone de un método computarizado, es útil tener un reloj marcador automático en la ventanilla de recepción. Por lo general en el Laboratorio de Microbiología, la mayoría de muestras requieren un procesamiento de rutina o electivo, sin embargo hay muestras que son consideradas de procesamiento urgente⁶, éstas son:

- Líquido cefalorraquídeo
- Líquido amniótico
- Líquido pericárdico
- Líquido articular
- Aspirado traqueal (pacientes de UCI)
- Secreciones oculares (endofthalmitis)
- Muestras provenientes de un acto quirúrgico
- Baciloscopia (BAAR) en esputo
- Hemocultivo

A todas ellas se les debe realizar coloración de Gram e informar inmediatamente, a excepción del hemocultivo que debe ser informado luego de su positividad y el BAAR que se hace una coloración Ziehl Neelsen. Los resultados de estas pruebas deben ser comunicados al médico vía telefónica. El laboratorio está en la obligación de localizar al médico las 24 horas para un reporte "urgente" en caso de no localizarlo dejar el mensaje a la enfermera o a otro miembro del grupo médico a cargo del paciente.

REPORTE DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

El laboratorio que realiza la prueba debe estar identificado en el reporte, al igual que la persona que realizó la prueba. Los reportes deben ser enviados a la historia clínica de los pacientes únicamente después de haber sido revisados por la persona responsable, autorizada. Todos deben tener un duplicado y deben ser guardados por dos años (a diferencia de los reportes de Inmunohematología e histopatología deben guardarse por 5 a 10 años). Los requisitos que debe cumplir un reporte son:

- Reporte claro y legible sin borrones o tachones.
- Confidencialidad del reporte, esto incluye un sistema de seguridad en el sistema de información.
- Rangos de referencia.
- Explicaciones en el reporte de ciertos resultados.

El Laboratorio de Microbiología debe contar con un especialista en microbiología clínica de nivel doctoral, que asista en la interpretación de los resultados.

FUNCIÓN DEL MÉDICO MICROBIÓLOGO EN LOS HOSPITALES

Actualmente el laboratorio de Microbiología es un instrumento eficaz tanto en el diagnóstico etiológico así como en la prevención colectiva de las enfermedades infecciosas y poco a poco está llegando a formar parte integrante de los servicios de salud. En la actualidad sus actividades sanitarias y médicas son de suma importancia en las disposiciones que se toman para prevenir y combatir las enfermedades

infecciosas, siendo en muchas ocasiones imprescindibles.

Es indispensable enfatizar primero en algunos puntos qué recomienda la OMS en relación con los laboratorios para posteriormente analizar el papel del médico microbiólogo en los hospitales.

1. El laboratorio de microbiología es hoy un elemento clave en la lucha mundial contra las enfermedades infecciosas pero su buen funcionamiento exige datos fidedignos y comparables; para poder suministrar tales datos es fundamental que el laboratorio cuente con personal competente, con una formación sólida en este campo. La primera condición que ha de cumplir un laboratorio para no quedarse a la zaga de los modernos adelantos, es emplear funcionarios de salud que tengan gran competencia.
2. Como a través de los laboratorios de microbiología se hace el diagnóstico de los agentes causales de las enfermedades infecciosas y la vigilancia del tratamiento, es indispensable que el laboratorio esté situado en el propio hospital. En efecto, el microbiólogo del hospital tiene que cooperar íntimamente con los infectólogos, epidemiólogos, clínicos, cirujanos, etc. y ser parte activa en los trabajos del equipo de diagnóstico, sólo esta colaboración entre ellos permitirá desempeñar adecuadamente su papel de consultor y ejercer orientación en el manejo de las muestras para evitar demandas de análisis inútiles y dispendiosas que desgasten el trabajo del laboratorio.

3. Las divisiones son posibles en los laboratorios altamente desarrollados, distribuyéndose funciones entre un grupo de unidades integradas (Bacteriología, Micología, Inmunomicrobiología, Parasitología, Virología, Pruebas de sensibilidad, etc). En éste, el laboratorio de microbiología debe ser un ente autónomo. En los laboratorios pequeños la microbiología ocupará un papel de acuerdo a las necesidades y demandas de la población a la que cubre y puede ser parte de un laboratorio clínico⁷.

Con todos estos antecedentes, el rol que cumple el microbiólogo en un centro asistencial se puede resumir en cuatro puntos:

- 1) Rol asistencial;
- 2) Rol en relación con control de las infecciones intrahospitalarias y de la comunidad;
- 3) Rol en la enseñanza e investigación; y
- 4) Rol en la evaluación del trabajo y control de calidad⁸.

ROL ASISTENCIAL

En el área asistencial el microbiólogo realiza el examen microbiológico de la muestra con el objeto de determinar la naturaleza exacta de las enfermedades infecciosas existentes en los pacientes hospitalizados y en la colectividad (consulta externa, ambulatorio) y personal del hospital.

Formula pautas para la recolección, el transporte y la manipulación de las muestras en forma apropiada.

Mantiene contacto regular con los colegas para ayudar a determinar el tipo de inves-

tigación más apropiada para la condición clínica sospechosa o el tipo de muestra que deberá ser enviada para estudio.

Organiza el laboratorio con la coparticipación de los funcionarios (Médicos, Bioquímicos, Tecnólogos Médicos, Técnicos, Auxiliares de laboratorio, etc), que en él laboran, así como llevar a cabo investigaciones para determinar pruebas seguras y económicas, capacitándose siempre para desarrollar nuevas y modernas tecnologías.

Comunica con rapidez a los diferentes médicos y autoridades sanitarias los resultados que conllevan trascendental importancia epidemiológica social o individual para que sean analizados, discutidos y posibiliten planificar actividades oportunas.

Estará informado sobre las investigaciones y forma de manejo de pacientes con problemas infecciosos.

Realiza pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos de acuerdo con métodos idóneos nacionales e internacionales. Presenta informes de prevalencia de resistencia.

Ayuda a sus colegas en las decisiones acerca del uso óptimo del laboratorio, el uso de antimicrobianos y otros aspectos del manejo de los procesos infecciosos.

Discute problemas clínicos y manejo de epidemias tanto en la población general como en la hospitalaria junto con el Infectólogo, Epidemiólogo Hospitalario y demás personal médico y paramédico. Es un consultor experto para asistir en la interpretación de los resultados.

Determina el momento en que un enfermo deja de ser contagioso y por lo tanto peligroso para la comunidad.

El microbiólogo deberá innovar las técnicas con las que no cuenta el centro asistencial y si éste lo requiere, deberá hacer evaluaciones de costo-efectividad⁹.

Contribuye al estudio etiológico y solución de los problemas infecciosos.

Facilita una información precisa y fidedigna al personal de la asistencia médica y sanitaria para que pueda adoptar medidas adecuadas comprometiéndose con las áreas asistencial y preventiva.

Localiza portadores de microorganismos que desempeñen un papel epidemiológico importante en la propagación de enfermedades infecciosas.

Asegura que las prácticas se realicen de conformidad con las normas apropiadas.

ROL EN RELACIÓN CON EL CONTROL DE LAS INFECCIONES HOSPITALARIAS

El microbiólogo junto con la enfermera jefe del Comité de Control de Infecciones Intrahospitalarias, el epidemiólogo e infectólogo coordinan el control de las infecciones nosocomiales. Registra e informa la aparición de cepas multirresistentes, el comportamiento de las mismas y surgimiento de brotes epidémicos intrahospitalarios

A través de su trabajo en el laboratorio se convierte en un elemento clave para el diagnóstico de epidemias que deben ser

informadas al epidemiólogo hospitalario a la brevedad posible.

Ayuda a conformar e implementar políticas sobre el uso de antibióticos, procedimientos para aislamiento, esterilización y desinfección.

Investiga el agente etiológico de estas infecciones mediante tipificación epidemiológica y desarrolla políticas de prevención junto con el Comité.

Envía oportunamente los resultados al Comité de Control de Infecciones Nosocomiales.

ROL EN LA ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

Interviene en los programas de educación de los estudiantes de pre y postgrado de Medicina, Bioquímica, Tecnología Médica y Enfermería. Establece programas de educación al personal del hospital.

Establece programas de educación a la población que concurre al hospital.

Investiga las patologías frecuentes de su área de influencia para entender su epidemiología, formas de diagnóstico, tratamiento y prevención de infecciones.

ROL EN LA EVALUACIÓN DEL TRABAJO Y CONTROL DE CALIDAD

El microbiólogo normatiza las técnicas microbiológicas.

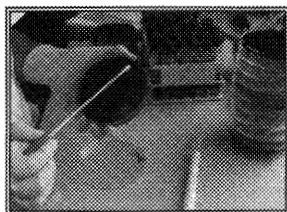
Mantiene reuniones con el personal admi-

nistrativo y con otros laboratorios de salud pública para realizar las evaluaciones periódicas de calidad, costos y beneficios de las pruebas solicitadas.

Debe estar dispuesto a someterse a evaluaciones periódicas por parte de un centro de referencia nacional e internacional.

BIBLIOGRAFÍA

1. Isenberg HD., Washington JA. II, Doern GV, y Amsterdam D. Specimen collection and handling. En: Balows A, Hausler WJ Jr., Herrmann KL, et al editors. Manual of Clinical Microbiology. American Society of Microbiology 5th ed Washington D.C. 1991
2. Rubin SJ. Specimen collection and processing. En: Howard BJ, Klass J II, Rubin SJ, et al. Clinical and pathogenic microbiology. Mosby, St Louis, Mo. 1987
3. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, et al. Diagnóstico microbiológico Texto y Atlas Color. Editorial Panamericana. 3era ed. Mexico. 1997
4. Gross PA, Harkavy LM, Barden GE, et al. The fallacy of cultures of the tips of Foley catheters. Surg Gynecol Obstet. 1974;139:597
5. Shea YR, Specimen collection and transport.. Sect 1.1 En: Isenberg HD, editor. Clinical microbiology procedures handbook. American Society of Microbiology. Washington D.C. 1992
6. Ellner, P. Diagnostic Laboratory Procedures in Infectious Diseases. Medical Clinical Of North America 1987; 71: 1065-1078
7. Neu HC. What should the clinician expect from the microbiology laboratory?. Ann Intern Med 1978; 89: 781-784
8. Smith JW (ed). The role of clinical microbiology in cost effective health care. College of American Pathologists. Skokie. IL. 1985
9. Anónimo (ed). Costo y utilidad de los servicios de Microbiología Clínica. Rev Esp de Microbiol Clin 1986; 1:6-10



II. INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR



El tracto respiratorio superior (TRS) se inicia con las fosas nasales y la boca y se continúa con la nasofaringe y orofaringe. Junto a éstas se encuentran los senos paranasales y el oído medio. Las infecciones del tracto respiratorio superior constituyen una de las consultas médicas más frecuentes, a pesar de que tienen un curso benigno y autolimitado, producen inconvenientes laborales o escolares por ausentismo e incluso pueden originar complicaciones supurativas y no supurativas de variada gravedad. En este grupo se encuentran la faringitis, otitis y sinusitis.

FARINGITIS

La faringitis aguda es un síndrome inflamatorio caracterizado por dolor faríngeo, en ocasiones al deglutir (disfagia), enrojecimiento y/o presencia de exudado en las paredes de la faringe y amígdalas que pue-

de cursar con fiebre y decaimiento general, esta puede ser causada por una variedad de microorganismos.

Con el nombre de faringitis se designan todas las infecciones de la faringe incluida la amigdalitis y faringo-amigdalitis. Se estima que alrededor del 70% de las faringitis son causadas por virus, por ello la utilidad de cultivos bacterianos en este tipo de infecciones es limitada. La bacteria que con mayor frecuencia ocasiona faringitis es el *Streptococcus pyogenes* o beta hemolítico del grupo A (SBHGA), su búsqueda es importante debido a que se debe diferenciar de una infección viral para evitar el uso innecesario de antibióticos y, sobre todo, por su relación con las posibles implicaciones inmunológicas que puede desencadenar como fiebre reumática y glomerulonefritis aguda¹. Los agentes causales

Tabla II-1

Agentes etiológicos de faringo-amigdalitis

	BACTERIAS	VIRUS/HONGOS
Frecuentes	<i>Streptococcus</i> beta hemolítico grupo A (EBHGA) o de otros grupos (C,F,G) ^a	Adenovirus Herpes simple Epstein Barr Rinovirus
Menos frecuentes	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> <i>Chlamydia</i> sp <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Enterovirus (herpangina) Virus influenzae Virus parainfluenzae Coronavirus
Raros	<i>Corynebacterium diphtheriae</i> <i>Treponema pallidum</i> Flora mixta con anaerobios ^b <i>Francisella tularensis</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Fusobacterium necrophorum</i> ^d	VIH Citomegalovirus <i>Candida</i> sp

^a No hay un consenso si estos grupos causan amigdalitis. Su frecuencia es baja.

^b Angina fusospiroal o de Vincent y absceso periamigdalino

^c En áreas endémicas

^d Agente responsable de la angina de Lemierre o sepsis postangina. Se observa en niños y adultos jóvenes. A menudo cursa con el desarrollo de tromboflebitis de la yugular, bacteriemia y aparición de metástasis en pulmón, pleura, hígado, y grandes articulaciones.

de faringo-amigdalitis se encuentran en tabla II-1.

El SBHGA es el agente causal del 15 al 30% de los casos de faringitis aguda. Las características de una faringitis por SBHGA son: exudado purulento amigdalino unilateral en el 80% de casos, disfagia, cefalea, adenitis dolorosa submaxilar o precervical unilateral en el 60% de casos y fiebre. Hay ausencia de coriza, tos y ronquera. El papel de los *Streptococcus* beta hemolítico grupo C y G en la patogénesis de la faringitis es incierto, un número pequeño de faringitis puede ser atribuido a estos grupos pero ninguno de éstos causan las complicaciones observadas con los SBHGA². El *Streptococcus* grupo C ha sido asociado con faringitis endémica en colegios y poblaciones adultas. Es el responsable del 5 al 10% de las faringitis.³

El Adenovirus, un virus icosaédrico, no encapsulado, con doble cadena de ADN y un diámetro de 70 a 90 nm ocasiona un cuadro de faringitis, mialgia, cefalea, escalofrío, mareo, con un marcado dolor de garganta. Al examen físico se observa un eritema faríngeo y puede haber exudado parecido al producido por SBHGA. Un tercio a la mitad de los pacientes con faringitis pueden presentar también conjuntivitis de tipo folicular. El adenovirus puede también estar involucrado en un sinnúmero de procesos infecciosos no sólo de tracto respiratorio. Las infecciones causadas por estos virus se encuentran en la tabla II-2.

Los enterovirus Coxsackie A y B, los Echovirus, y otros patógenos virales en TRS pueden causar Herpangina, una infección de la faringe con vesículas de 1 a 2 mm en el paladar blando, úvula y pilares anteriores, éstas se agrandan y se rompen dando lugar a pequeñas úlceras rodeadas de un anillo eritematoso. Este tipo de infecciones ocurre frecuentemente en niños durante el verano y otoño. Este cuadro se acompaña también de fiebre, dolor y ardor de garganta y a veces con malestar general, anorexia y molestias abdominales. La mayoría de los casos de herpangina se resuelven sin complicaciones en 3 a 6 días. Los enterovirus pertenecen a la familia *Picornaviridae*, *Enterovirus* y *Rhinovirus*. Comparten las siguientes características: son virus desnudos, resistentes al éter, de 20 a 30 nm, con una cápside icosaédrica compuesta por 4 proteínas y una única cadena no segmentada de ARN.

Los rinovirus constituyen el 20 % de las faringitis, están implicados unos 100 tipos. Se presentan en el resfriado común y la faringe puede aparecer normal con un moderado edema y eritema, hay rinorrea y descarga retrorrenal, no se observan exudados faríngeos ni amigdalinos, ni linfadenopatía dolorosa. Estos síntomas generalmente duran unos 3 a 4 días pero la recuperación total se alcanza en una semana⁴.

Tabla II-2

Infecciones causadas por Adenovirus

PROCESO INFECCIOSO	SIGNOS Y SÍNTOMAS
RESPIRATORIO:	
Infección del tracto respiratorio superior	Coriza, faringitis, fiebre, tonsilitis, diarrea
Infección del tracto respiratorio inferior	Bronquitis, neumonía, fiebre coriza tos
Síndrome coqueluchoide	Tos paroxística, vómito, fiebre
Enfermedades agudas respiratorias	Traqueo-bronquitis, fiebre, mialgia, coriza neumonía.
OCULAR:	
Fiebre faríngea-conjuntival	Faringitis, conjuntivitis, fiebre, dolor de cabeza, diarrea, rash, adenopatías
Querato-conjuntivitis epidémica	Queratitis, dolor de cabeza, adenopatías preauriculares, coriza, faringitis, diarrea
Conjuntivitis aguda hemorrágica	Chemosis, folicúlos, hemorragia subconjuntival, adenopatías preauriculares. Fiebre
TRACTO GENITOURINARIO:	
Cistitis	Cistitis, generalmente hemorrágica, fiebre Faringitis
Enfermedades venéreas	Lesiones ulcerativas genitales, uretritis, cervicitis
TRACTO GASTROINTESTINAL:	
Gastroenteritis en niños	Fiebre, náusea, vómito, diarrea e infección de tracto respiratorio superior
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	Meningitis, encefalitis, Síndrome de Reye
INDIVIDUO INMUNO COMPROMETIDO	Infecciones del tracto respiratorio, neumonía, rash, diarrea, hepatitis, cistitis otitis media.

Modificado de J.C. Hierholzer: Adenovirus. En Balows A, Hausler W., Herrmann K et. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. ASM1991

Los virus Herpes tipo 1 y 2 pueden causar faringitis aguda, que es imposible de distinguir de las causadas por otros virus respiratorios. Lo más típico son las vesículas y las úlceras superficiales. El diagnóstico suele ser más fácil cuando se acompaña de vesículas en el paladar, gingivostomatitis y una marcada adenopatía submaxilar

bilateral. En pacientes inmunocomprometidos puede presentarse como un cuadro crónico, con úlceras progresivamente grandes, superficiales pero muy dolorosas. El virus HSV-1 y el HVS-2 junto con el virus de la Varicella zoster son virus humanos que se han clasificado dentro de los alphaherpesvirus, subfamilia de los herpesvirus. Tienen un ciclo

de reproducción muy corto, produciendo infección lítica en el cultivo celular y estado de latencia en los ganglios neuronales. Tiene una cápside icosaédrica compuesta de 162 capsómeros y una doble cadena de ADN. Es un virus con membrana que es adquirida cuando el virión gema a través de la membrana nuclear que ha sido modificada por inserción de proteínas virales.

La Mononucleosis Infecciosa en la mayoría de veces se presenta con fiebre, faringoamigdalitis con exudado amigdalino bilateral, fatiga, adenopatías cervicales posteriores. La enfermedad es causada por el virus Epstein-Barr. El Citomegalovirus ocasionalmente puede dar un cuadro muy similar a mononucleosis.

Una infección primaria con HIV puede causar una faringitis aguda febril, con dolor y ardor de garganta y adenopatías que se asemeja a una mononucleosis infecciosas⁵.

La Angina de Vincent es una infección causada por una asociación de anaerobios Gram negativos y vibriones, fusiformes y espirilos. *Fusobacterium necrophorum*, *Treponema vincentii*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides* están involucrados. Las causas son mala higiene oral, fatiga, stress, malnutrición, alteraciones metabólicas y endocrinas. Se presentan principalmente con pseudomembranas grises y ulceraciones en las amígdalas, con dolor, adenopatías cervicales y sobre todo muy mal olor, aliento fétido por lo que se conoce también como "boca de trinchera". El diagnóstico es básicamente clínico. La pseudomembrana gris que está presente uni o bilateralmente se desprende muy fácilmente a diferencia de la membrana diftérica que es difícil de desprender con el hi-

sopo y que además sangra. Una tinción de Gram puede ser de ayuda al confirmar la presencia de la asociación fuso-espirilar típica (fusobacterias y espiroquetas.) Sin embargo como esta flora puede estar presente como flora orofaríngea habitual el realizar el Gram sin cuadro clínico carece de valor diagnóstico.

La *Neisseria gonorrhoeae* debería ser considerada como una causa de faringitis en los pacientes sexualmente activos. En un estudio de adultos con gonorrea la faringitis gonocócica fue encontrada en el 20% de homosexuales varones, en el 10% de mujeres y 3% de varones heterosexuales. El 50% de casos fue asintomático pero puede presentarse con odinofagia, febrículas y eritema⁶.

El *Corynebacterium diphtheriae*, es el agente causal de la difteria, se manifiesta por dolor de garganta y eritema de la faringe especialmente de las amígdalas. El eritema es seguido por unas manchas grises que confluyen y forman membranas. Éstas se pueden extender al paladar blando, faringe posterior y laringe. La membrana se rodea de un borde rojizo y cuando se la desprende, ésta sangra. Además existen adenopatías cervicales agrandadas; en los pacientes severamente enfermos estas adenopatías crecen tanto que dan el aspecto de "cuello de toro". Puede también afectar laringe y tráquea dando ronquera y distress respiratorio e incluso muerte por obstrucción de la vía aérea, especialmente en niños. La bacteria permanece localizada en el sitio de la infección y las características sistémicas se deben a la presencia de una toxina polipeptídica que llega a las células receptoras a través de vía sanguínea y vasos linfáticos. Una vez que la toxina llega a las células inhibe la síntesis proteica por inactividad del factor-2 de



elongación (EF-2), los pacientes desarrollan fiebre, escalofrío y astenia progresiva. Los órganos más afectados son el corazón, riñones y nervios periféricos. La miocarditis se desarrolla en las primeras 2 semanas. La toxina es incapaz de cruzar la barrera hematoencefálica, esto explica al parecer su preferencia por los nervios craneales y periféricos. El desorden neurológico más común es la parálisis palatina y por lo tanto dificultad en la deglución. Esta infección actualmente es rara en países con programas de inmunización, podría considerarse una enfermedad en remisión pero todavía pueden presentarse en forma epidémica o esporádica en cualquier parte del mundo.

Arcanobacterium haemolyticum ocasionalmente puede causar una infección que simula difteria, abscesos peritonsilares y otro tipo de infección que suele confundirse con fiebre escarlatina, principalmente en adolescentes pues puede acompañarse de un "rash" escarlatiforme⁷. Anteriormente se la conocía como *Corynebacterium haemolyticum*, es un cocobacilo Gram positivo, intracelular que afecta a niños, adolescentes y adultos jóvenes. Es una bacteria que al ser sembrada en agar sangre produce hemólisis beta, mejor observada en sangre de conejo que de cordero^{8,9}.

Otros agentes etiológicos de faringitis son: *Mycoplasma*¹⁰ cuya implicación es menor al 1%, *Chlamydia pneumoniae* agente poco frecuente, se estima que está implicada en el 1% de las faringitis^{11,12}, *Yersinia enterocolitica* la cual está asociada con la ingesta de alimentos contaminados, también se han reportado casos de faringitis de evolución fulminante^{13,14}, *Mycobacterium tuberculosis*, *Treponema pallidum* e infecciones micóticas, se discutirán en capítulos posteriores.

TOMA DE MUESTRA

El objetivo principal en el diagnóstico de una faringitis aguda es distinguir casos de etiología viral de esos producidos por SBHGA y el detectar e identificar casos ocasionales debidos a un patógeno inusual o raro.

Para la toma de muestra de los exudados faringo-amigdalinos se necesita una buena fuente de luz, un hisopo de Dacron o que contenga alginato de calcio y un bajalenguas. Se coloca el cuello del paciente en hiperextensión y se ilumina la garganta deslizando y rodando el hisopo por ambas amígdalas (o los pilares en caso de no haber amígdalas) procurando que en ningún momento toque la lengua o el paladar. Si hay exudado o membranas se deben tomar éstas. En caso de niños pequeños la madre debe sentar al niño en su regazo y cruzar sus brazos sobre los del niño de tal forma que sujete al niño. Una vez tomada la muestra se coloca el hisopo en el medio de transporte (Figura II-1) y se envía al laboratorio dentro de las 4 horas siguientes, si va a tardar más se debe utilizar medios de transporte de acuerdo a la tabla II-3, pues estos mantienen viables los microorganismos y evitan el sobrecrecimiento de los contaminantes como las bacterias de la saliva, lengua o paladar que pueden proliferar mejor o competir por sobrevivir.

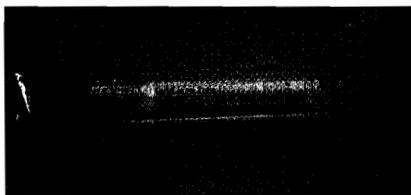


Figura II-1
Medio de transporte comercial con medio de cultivo Stuart.

Tabla II-3

VIRUS	TOMA DE MUESTRA	MEDIO DE TRANSPORTE
Adenovirus Herpes simple Epstein Barr Rinovirus Enterovirus Virus influenzae Coronavirus Citomegalovirus	Hisopado ^a	La muestra debe colocada en 2 o 3 ml de 2SP (partes iguales de 0,2 M sucrosa en 0.02 M buffer fosfato de sodio a 7.2 pH) debe ser enviado al laboratorio de referencia a 4° o 6°C, pero no congelado.

BACTERIAS	TOMA DE MUESTRA	MEDIO DE TRANSPORTE
<i>Streptococcus beta hemolítico grupo A (EBHGA)</i> o de otros grupos (C,F,G)	Hisopado	Stuart
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> ^b		Stuart
<i>Chlamydia sp</i>		SPG ^c : solución bufferada refrigerar a 4°C tan pronto como sea posible y mantener a esta temperatura 1-4 horas antes de congelar a -65°C, para cultivo en células McCoy, Hela.
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> ^d		2ml de Caldo tripticasa soya al que se ha añadido 0.5% de albúmina bovina y 200 U/ml de penicilina
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ^e		Stuart o Amies Carbón
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		Stuart
<i>Trepanema pallidum</i>		No se cultiva "in vitro".
Flora mixta con anaerobios ^f		No está indicado el cultivo de exudado faríngeo para búsqueda de anaerobios.
<i>Francisella tularensis</i>		Stuart
<i>Yersinia enterocolitica</i>		Stuart
<i>Fusobacterium necrophorum</i>		Stuart

HONGOS	
Candida	Stuart

^a Las muestras de faringe mediante hisopado no son tan efectivos como las nasofaríngeas tomadas a través de un catéter para estudios virales.

^b Conocido anteriormente como *Corynebacterium*. No necesita medios especiales para su transporte y crecimiento. Cuando se cultiva hay que tener cuidado de no confundir con SBHGA pues da hemólisis en el agar sangre de cordero, pero es catalasa positiva, y con el *C. diphtheriae* pues crece muy bien en Agar Loeffler, pero mal en agar telurita.

^c Sacroso-fosfato-ácido glutámico siglas del inglés SPG (Sucrose-Phosphate-Glutamic acid). Las hisopadas faríngeas también son útiles para el diagnósticos de neumonías pues los esputo son tóxicos para las células del cultivo. Es fundamental mantener primero a 4°C por 1 a 4 horas pues la congelación rápida baja el número de microorganismos viables según el estudio de Kuo C-C, Grayston JT¹³.

^d Son extremadamente sensibles a la desecación y deben ser sembradas rápidamente, si esto no es posible, se puede mantener la muestra a 4°C durante 48 horas o deben ser almacenadas a -70°C (no a -20°C). Los micoplasma sobreviven a la congelación y descongelación si luego se los coloca en un medio que contenga proteínas.

^e La bacteria sobrevive bien 6 a 12 horas. Si va a tardar mayor tiempo existen otros medios como la caja JEMBEC o Bio-Bag Gono-Pack Systems (Becton Dickinson Microbiology Systems) o se puede optar por enviar la muestra ya sembrada en medios como Thayer Martin, Martin Lewis o New York City, dentro de una jarra con 5% de CO₂ (sobre generador de microaerofilia) a 35°C o en una jarra con el sistema de la vela.

^f En este medio, la bacteria es viable por 24 horas si el tiempo es mayor se debe colocar en el medio de slice gel o un medio enriquecido con telurita

^g Para Angina de Vincent, el diagnóstico es clínico

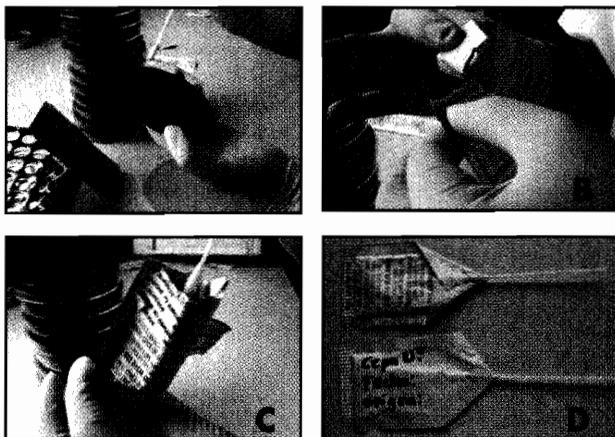


Figura 11-2
 Medio de transporte sílice gel. A. Tomar una buena muestra con un hisopo, de un cultivo con un aislamiento puro. B. Romper el sobre que contiene sílice-gel. C. Colocar el hisopo dentro del sobre y cerrar el sobre como lo demuestra la figura D. Rotular con los datos requeridos. En caso de no disponer del aislamiento se puede enviar la muestra del paciente de la misma forma descrita.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Los estudios para virus en este tipo de muestras no se realizan por lo general en los laboratorios asistenciales hospitalarios, por este motivo si hay una solicitud para ello se debe enviar la muestra en medio de transporte a un centro de referencia, debido a que los virus pierden su poder infectivo rápidamente en un hisopo seco, como es el caso de los Adenovirus (son más resistentes los Enterovirus). Si la solicitud es para un cultivo bacteriano se asumirá que es un cultivo de rutina para investigar SBHGA a menos que la solicitud indique alguna otra búsqueda especial (difteria, gonococo, meningococo, etc.) El SBHGA puede sobrevivir en hisopos secos hasta 72 horas. Si la solicitud de cultivo de exudado faringoamigdalino está encaminada a la búsqueda de *Corynebacterium diphtheriae* o *Neisseria gonorrhoeae*, se debe sembrar en los medios selectivos como agar inclinado de Loeffler, o agar Thayer Martín o Chocolate respectivamente. Es impor-

tante recalcar que estos dos patógenos no se buscan rutinariamente, por lo que se debe hacer una solicitud especial para su búsqueda en caso de sospecha clínica. A pesar de que *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* son aislados frecuentemente en este tipo de muestras, éstos no son causa de faringo-amigdalitis. El *Staphylococcus* puede causar abscesos tonsilares, y el *Haemophilus influenzae* epiglottitis. Esta última se diagnostica con hemocultivo y esta contraindicado el cultivo faringo-amigdalino debido a que el hisopado de la garganta puede causar espasmo de la epiglottis. Debido a la vacuna contra el *Haemophilus influenzae*, estas infecciones cada vez serán más raras, como ya se ha demostrado en países donde la vacunación fue iniciada hace ya varios años¹⁵.

En conclusión, una muestra del exudado faringo-amigdalino se siembra rutinariamente para la búsqueda de *Streptococcus beta hemolítico*, tanto del grupo A co-

mo del C y G, los estudios virales si fueran necesarios se enviarán a un centro de referencia y los otros patógenos deben ser solicitados específicamente.

INVESTIGACIÓN DE STREPTOCOCCUS BETA HEMOLÍTICO GRUPO A

La siembra es en agar sangre de corde-ro, a 35°C en atmósfera con 5% de CO₂ durante 24 horas. El estudio se encaminará al aislamiento de las colonias beta hemolíticas (Figura II-3), esta característica no se observa en sangre humana. Debido a las secuelas que puede producir el SBHGA, éste es el más importante en ser identificado. Los grupos C y G también pueden causar sintomatología, pero sin las consecuencias inmunológicas del primero.

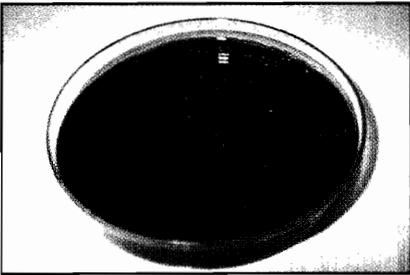


Figura II-3
Agar sangre de cordero con colonias beta hemolíticas de *Streptococcus*

Estas colonias deben ser aisladas para la prueba de sensibilidad al disco de papel filtro impregnado de 0,04 ug de bacitracina (Taxo A, BBL o Bacto bacitracina, Laboratorios Difco.) Los SBHGA son inhibidos por la bacitracina y se forma un halo de inhibición alrededor del disco (Figura II-4).

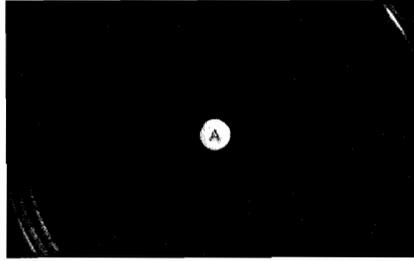


Figura II-4
Disco de bacitracina de 0,04 ug. Obsérvese el halo de inhibición alrededor del disco.
La presencia del halo indica que es un *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A.

El 7% de SBHGA pueden no ser inhibidos por el disco de bacitracina y un porcentaje muy pequeño de grupo B pueden ser inhibidos por lo que se recomienda realizar otra prueba que es la hidrólisis del PYR. En esta prueba se utiliza como sustrato la L-pirridonil-B-naftiladima que al hidrolizarse libera L-pirrolidona y B-naftilamina. Como revelador se emplea un aldehído (reactivo PYR). La prueba positiva se manifiesta por la aparición de coloración roja. También se puede realizar una identificación directa del antígeno que permiten clasificar a los *Streptococcus* A, B, C, D, F, y G, para ello se pueden emplear diferentes técnicas de extracción, precipitación o látex aglutinación. Existen varias en el mercado como Strepto-kit de BioMérieux, Streptococcal grouping kit de Oxoid, o BD, etc. (Figura II-5); también existen en el mercado sistemas de lectura rápida como RapidStrep, Api20S, Rapid STR, BBL Cristal, Remmel y sistemas automatizados como MicroScan, AutoMicrobic Gram positive, Vitek, etc. Figura II-6.

ES ÚTIL LA TINCIÓN DE GRAM EN CASOS DE FARINGO AMIGDALITIS?

Una tinción Gram de la secreción faríngea no es de ayuda diagnóstica, salvo los casos de *Difteria* en los cuales se busca bacilos Gram positivos en empalizada, V o letras chinas (es más útil una coloración de Albert); o en el caso de búsqueda de hongos tipo *Candida* u otro tipo de levadura en los lactantes y pacientes inmunodeprimidos. Por lo tanto la solicitud "Fresco y Gram" de secreción faringo-amigdalina no es útil.

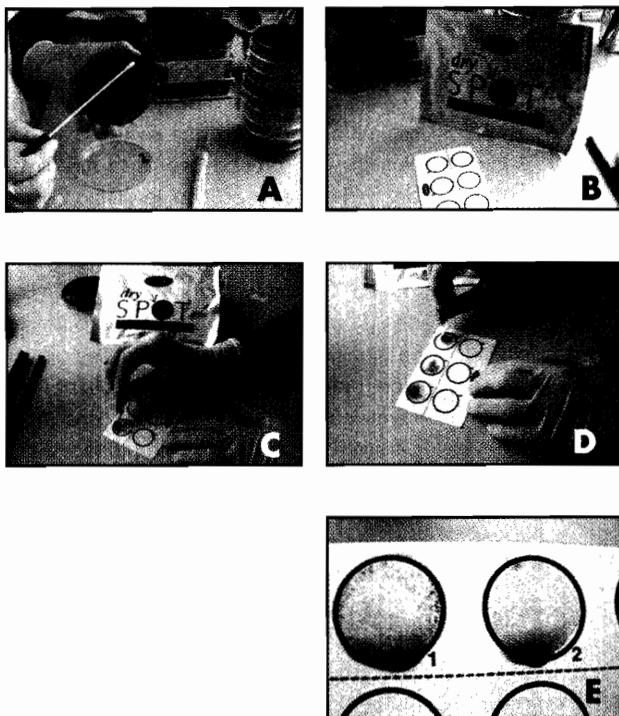


Figura 11-5
Realización de aglutinación para identificación de grupo de *Streptococcus A*. De un cultivo puro tomar 4 a 5 colonias a investigar. B, Aglutinar el antígeno (*Streptococcus* previamente tratado con enzima de extracción). C Colocar el anticuerpos en cada pocillo D. Prueba de aglutinación por látex. E: El círculo de la izquierda muestra aglutinación (positivo), en el de la derecha no hay aglutinación (negativo). Dependiendo del antígeno que estemos usando podemos llegar a identificar el grupo A, B, C, D, F, G de los *Streptococcus* beta hemolíticos.

PRUEBAS RÁPIDAS QUE NO REQUIEREN CULTIVO

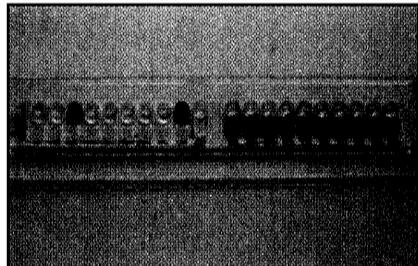
Uno de los avances significativos en el área de microbiología en los últimos años ha sido el desarrollo de pruebas rápidas que evitan la realización de cultivos. Una de éstas es la prueba para identificar el antígeno del SBHGA en las secreciones faringo-amigdalinas en forma rápida y directa. Existen alrededor de 40 distribuidores comerciales que emplean diversas tecnologías, como látex aglutinación, enzima inmunoensayo, inmunocromatografía y sondas genéticas. Estas permiten la detección del antígeno en aproximadamente 10 minutos. Dependiendo del método, en general estas pruebas han demostrado una especificidad >90% pero la sensibilidad puede ir del 60% al 95% dependiendo en parte de la sensibilidad del método de cultivo utilizado para control¹⁶.

Tanto el cultivo como la detección del antígeno son valiosos para la decisión de utilizar antibióticos o no y sobre todo para el manejo de miembros sintomáticos en la familia. Sin embargo es necesario enfatizar que todas las pruebas rápidas disponibles en el mercado tienen sus limitaciones, por lo que una prueba rápida negativa debe ser confirmada por un cultivo¹⁷. Figura 11-7.

Figura 11-6
Sistema Api-Strep, BioMerieux. Es una galería de 20 reacciones bioquímicas con un código de 7 dígitos para la identificación.

¿Es procedente realizar un antibiograma para el SBHGA aislado de una faringo-amigdalitis?

En relación con las pruebas de sensibilidad, el SBHGA es sensible a penicilina, no se han reportado en la literatura cepas resistentes a nivel mundial. Salvo el caso de alergia a la penicilina la prueba de sensibilidad antibiótica es recomendable, de lo contrario es suficiente con indicar que el antimicrobiano de elección para SBHGA es penicilina. Si se requiere de un antibiograma, para los casos mencionados se puede llevar a cabo en agar Mueller Hinton añadido 5% de sangre de cordero de acuerdo a las normas del NCCLS, principalmente para macrólidos y tetraciclina, esto debido a la alta resistencia presentada en algunas áreas geográficas. La utilización de penicilina en faringo-amigdalitis por SBHGA sigue vigente, además que es la única droga que previene la fiebre reumática.



PRUEBAS SEROLÓGICAS

Son útiles en caso de mononucleosis infecciosa. Los anticuerpos heterófilos descritos en 1932 por Paul y Bunnell están presentes en el 90% de los casos; es la clásica prueba de Monospot. Esta hemoaglutinación, que detecta anticuerpos heterófilos tiene una sensibilidad del 98% y una especificidad del 99%¹⁸. Existen pruebas comercializadas altamente sensibles y específicas orientadas a la búsqueda de anticuerpos específicos IgG e IgM para VCA que es el antígeno de cápside viral, IgG permanece toda la vida mientras que la IgM es de aparición temprana. Las titulaciones de IgM caen rápidamente y pueden ser detectadas hasta 4 meses¹⁹. Los anticuerpos EBNA (Epstein Barr antígeno nuclear) son asimismo, altamente específicos y sensibles. Son de aparición tardía y persisten durante toda la vida²⁰. La serología en estos casos es muy útil pues los cultivos para virus de Epstein Barr son de poco uso clínico debido a que la mayoría de los individuos pueden ser portadores y pueden encontrarse en enfermedades no relacionadas con Epstein Barr por lo que su cultivo ha quedado reducido a muy pocos laboratorios referenciales.

Un suero en fase aguda y otro en fase de convalecencia (15 días a 3 semanas) son indispensables para establecer el proceso infeccioso.

Algunos laboratorios ofrecen cultivos y pruebas rápidas para virus de la influenza, adenovirus, herpes simple, citomegalovirus y *Mycoplasma pneumoniae* y *C. pneumoniae*. Los estudios para virus del resfriado común por el momento se realizan únicamente en ciertos centros de referencia.

¿Qué importancia tienen los aislamientos de enterobacterias o bacilos coliformes en un exudado faringó o faringo-amigdalino?

Las enterobacterias o bacilos coliformes que son aislados de secreciones faringo-amigdalinas generalmente no deben ser reportados, pues estos normalmente no causan faringo-amigdalitis y únicamente pueden estar colonizando la garganta. Pueden servir como reservorios de una infección del tracto respiratorio inferior. Si un paciente está hospitalizado seguramente se colonice con enterobacterias que por lo general suelen ser resistentes a los antibióticos usados en el hospital. A estos hallazgos no se debe reportar antibiogramas, excepto si hay una solicitud específica del médico o para propósito del comité de control de infecciones.

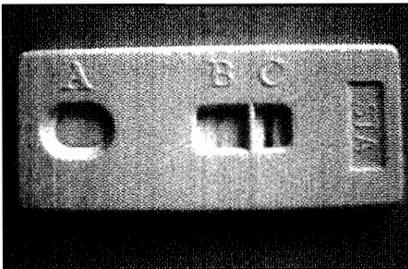


Figura 11-7
Prueba rápida inmunocromatográfica para detección de *Streptococcus* beta hemolítico grupo A directamente de la muestra. La presencia de dos rayas rojas (B y C) indica prueba positiva, mientras que la presencia de una raya roja en la C (control) indica prueba negativa.

BIBLIOGRAFIA

1. Bisno AL. Acute pharyngitis: Etiology and diagnosis. *Pediatrics*. 1996; 97[suppl]:949-954
2. Hayden GF, Murphy TF, Hendley JO. Non-group A beta-hemolytic streptococci in childhood pharyngitis. *South Med J*. 1988;81:329-331
3. Meier FA, Centor RM, Graham L, Jr, et al. Clinical and microbiological evidence of endemic pharyngitis among adults due to group C streptococci. *Arch. Intern. Med*. 1990; 150:825-829
4. Tyrrel DAJ. *Common Colds and Related Diseases*. Baltimore: Williams & Wilkins. 1965
5. Valle SL. Febrile pharyngitis as the primary sign of HIV infection in a cluster of cases linked by sexual contact. *Scand J Infect Dis*. 1987;99:249-255
6. Hutt DM, Judson FN. Epidemiology and treatment of oropharyngeal gonorrhoea. *Ann Intern Med* 1986; 104:655
7. Green SL, LaPeter KS. Pseudodiphtheric membranous pharyngitis caused by *Corynebacterium haemolyticum*. *JAMA*. 1981; 245:2330
8. Karpathios T, Drakonaki S, Zervoudaki, et al. *Arcanobacterium haemolyticum* in children with presumed streptococcal pharyngotonsillitis or scarlet fever. *J Pediatr* 1992, 12:735-737
9. Miller RA, Brancato F, Holmes KK. *Corynebacterium haemolyticum* as a cause of pharyngitis and scarlatiniform rash in young adults. *Ann Intern Med*. 1986; 105:867-872
10. Denny FW, Clyde WA, Glenzen WP. *Mycoplasma pneumoniae* disease: Clinical spectrum, pathophysiology, epidemiology and control. *J Infect is*. 1971; 123:74
11. Tom DH, Grayston JT, Wang S-P., et al. *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *Mycoplasma pneumoniae* and viral infections in acute respiratory disease in a university student health clinic population. *Am J Epidemiol*. 1990;132:248-256
12. Graystone JT. Infections caused by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *Clin Infect Dis*, 1992;15:757-763
13. Cover TL, Aber RC. *Yersinia enterocolitica*. *N Engl J Med*. 1989; 321:16-24
14. Rose FB, Camp CJ, Antes EJ. Family outbreak of fatal *Yersinia enterocolitica* pharyngitis. *Am J Med*. 1987;82:636-637
15. Kuo C-C, Grayston JT. Factors affecting viability and growth in HeLa 229 cells of *Chlamydia sp*. Strain TWAR. *J Clin Microbiol*. 1988; 26:812-815
16. Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM Jr, et al. Group A Streptococcal pharyngitis: Diagnosis and management. A practical guideline. *Clin Infect Dis*. 1977;25:574-583
17. Kellog JA. Suitability of throat culture procedures for detection of group A streptococci and as reference standards for evaluation of streptococcal antigen detection kits. *J. Clin. Microbiol*. 1990;28:165-169
18. Basson V, Sharp AA. Monospot: A differential slide test for the infectious mononucleosis. *J. Clin Pathol*. 1969;22:324-325
19. Evans AS, Niederman JC, Cenabre LC, et al. A prospective evaluation of heterophile and Epstein Barr virus specific IgM antibody test in clinical and subclinical infectious mononucleosis. Specificity and sensitivity of the tests and persistence of antibody. *J Infect Dis*. 1975;132:546-554.
20. Henle W, Henle G, Niederman JC, et al. Antibodies to early antigens induced by Epstein Barr virus in infectious mononucleosis. *J. Infect Dis*. 1971;124:58-67

SINUSITIS

La sinusitis es una infección de uno o más senos paranasales, suele producirse como una complicación de un resfriado común u otra infección vírica; constituye el 5 al 10% de todas las afecciones de este tracto y afecta a todas las edades. Desde que aparecen en la lactancia los antros maxilares y las celdas etmoidales anterior y posterior suelen tener un tamaño suficiente para albergar una infección. El esfenoidal hasta los 3 a 5 años y el frontal hasta los 6 a 10 años de edad. En adultos y adolescentes los síntomas de sinusitis incluyen obstrucción nasal, coriza, dolor facial, cefalea y fiebre¹. En los niños pequeños los síntomas son menos específicos y se superponen con los del resfriado común². En los pacientes con infección de vías aéreas superiores deben sospecharse sinusitis cuando los síntomas perduran por más de 30 días. La sinusitis puede ser diagnosticada clínicamente, se resuelve espontáneamente en el 40% de los casos y puede no requerir un cultivo para su diagnóstico. El examen otorrinolaringológico debe incluir la rinoscopia anterior y la nasofibroscopia que permite observar el origen de la rinorrea, descartar cuerpos extraños, alteraciones anatómicas endonasales y presencia de masas tumorales³. En circunstancias normales los senos son estériles. Sin embargo, debido a su contigüidad con la mucosa nasal y faríngea (densamente pobladas por bacterias) pueden colonizarse transitoriamente, pero constantemente los senos paranasales son "limpiados" de esta flora transitoria por el aparato mucociliar⁴.

TOMA DE MUESTRA

La toma de muestra es crítica pues, para que tenga valor, debe ser obtenida sin ninguna contaminación con secreción nasal. Por este motivo la muestra debe ser extraída por punción y aspiración⁵. El seno más afectado generalmente es el maxilar en el adulto y el etmoidal en el niño pequeño. La punción del seno se realiza con aguja gruesa o trocar ya en el meato inferior de la fosa nasal, donde la pared interna del seno es más delgada o en la pared anterior del mismo por la arcada dentaria. En las punciones de los senos etmoidales y senos frontales se utiliza la vía externa previa incisión de la piel. Aunque la aspiración del seno es la prueba de oro para el diagnóstico de sinusitis bacteriana aguda, este tipo de toma es limitado, debido a que es invasiva, potencialmente dolorosa, debe ser realizada exclusivamente por el especialista (otorrinolaringólogo) y no es recomendado hacerlo de rutina para diagnóstico en niños. Una vez que se haya tomado la muestra es importante hacer una tinción Gram y correlacionar con la cantidad de leucocitos.

Una alternativa a la punción-aspiración es la toma de muestra a través de una rinoscopia. Sin embargo, no es posible acceder a la cavidad del seno con endoscopia a través del ostium natural, sólo es posible entrar en un 10 al 30% de los individuos a través de este ostium, de todas maneras esto no anula por completo la contaminación con la flora nasal. La vía endoscópica puede ser útil siempre y cuando haya material purulento que salga del meato medio, sorteando el ostium (por debajo del cornete medio conocido como complejo osteomeatal al cual drenan el seno fron-

tal, los maxilares y los etmoidales anteriores.) En ocasiones este meato no permite salida de material debido a que el mismo proceso infeccioso causa edema e inflamación.

Por el momento no hay suficiente información que permita establecer si la endoscopia pueda reemplazar a la punción aspiración. Por lo tanto ésta última continúa considerada la prueba de oro para el diagnóstico de sinusitis.

La microbiología de la sinusitis es bien conocida, gracias a todos los estudios que se realizaron durante los años 50. *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* son los patógenos más importantes ocupando cerca del 50% de los casos. *Moraxella catarrhalis* es más frecuente en niños que en adultos, mientras que el caso contrario se presenta para anaerobios⁶. Los microorganismos implicados en la sinusitis se encuentran en la tabla II-4. Las

características bacteriológicas de la sinusitis aguda en niños son similares a la de los adultos⁷. Pueden presentarse como sinusitis bacteriana aguda, subaguda, aguda recurrente, crónica y bacteriana aguda sobreañadida a una sinusitis crónica⁸.

Los cultivos del material del seno obtenido a través de punción aspiración únicamente son positivos en el 60% de los casos. La causa de esto no está bien establecida, pero probablemente se trate de infecciones virales o por *C. pneumoniae*, aunque su papel como agente etiológico de sinusitis es controversial. *M. pneumoniae* ha sido también implicada pero no hay suficiente evidencia por el momento⁹.

Los cultivos faringo-amigdalinos, nasofaríngeos o hisopados nasales generalmente no se correlacionan con el agente etiológico de la infección del seno paranasal. Únicamente la punción del seno paranasal tiene valor¹⁰.

Tabla II-4
Microorganismos implicados en la sinusitis

	AGUDA	CRÓNICA
Frecuentes	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>	
Poco frecuentes	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Bacilos Gram negativos (BGN) ^a Anaerobios ^b	Anaerobios BGN (<i>Proteus</i> , <i>E coli</i> y otros) Hongos (<i>Aspergillus Mucor</i> y otros) ^c

Pseudomonas aeruginosa en pacientes con fibrosis quística. Sinusitis adquirida en el hospital debido a sonda nasogástrica o intubación por vía nasal.
Prevotella sp. *Bacteroides*. *Peptostreptococcus*. y *Fusobacterium* en la sinusitis maxilar de origen dental.
Los hongos pueden causar sinusitis crónica en individuos sanos y sinusitis aguda en diabéticos y en otros tipos de inmunodepresión.

¿Son útiles los hisopados nasales para el diagnóstico de sinusitis?

Los hisopados nasales no son útiles para el diagnóstico de sinusitis, pues carecen de valor para predecir al agente etiológico. La toma de muestra mediante un hisopado nasal está limitada a la búsqueda de un reducido número de patógenos y en circunstancias especiales otras que sinusitis, tal es el caso de:

- 1) **Bordetella pertusis**, Virus Sincitial Respiratorio y
- 2) Portadores de **Staphylococcus aureus**, (en caso de brotes severos focales de infecciones nasocomiales) **N. meningitidis**, **N. gonorrhoeae**, **S. pyogenes** y otros patógenos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gwaltney JM Jr. Sinusitis. En: Mandell, Douglas And Bennet's. Principles and practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone 5th ed. Philadelphia. 2000.
2. Fireman P. Diagnosis of sinusitis in children: emphasis on the history and physical examination. J Allergy Clin Immunol. 1992;90:433-436
3. Williams JW, Simel DL. Does this patient have sinusitis? Diagnosing acute sinusitis by history and physical examination. JAMA. 1993;270:1242-1246
4. Gwaltney JM Jr. Acute community-acquired sinusitis. Clin Infect Dis. 1996;23:1209-1223
5. Gold SM, Tami TA. Role of middle meatus aspiration culture in the diagnoses of chronic sinusitis. Laryngoscope. 1997;107:1586-1589
6. Gordts F, Abu Nasser I, Clement PA, Pierard D, Kaufman L. Bacteriology of the middle meatus in children. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 1999;48:163-167
7. Gwaltney JM Jr, Scheld WM, Sande MA, Snyder A. The microbial etiology and antimicrobial therapy of adults with acute community-acquired sinusitis: A fifteen-year experience at the University of Virginia and review of other selected studies. J Allergy Clin Immunol. 1992; 90:457-462
8. Wald ER. Chronic sinusitis in children. J Pediatr. 1995;127:339-347
9. Wald ER. Microbiology of acute and chronic sinusitis in children. J Allergy Clin Immunol. 1992;90:452-456
10. International Rhinosinusitis Advisory Board. Infectious rhinosinusitis in adults: classification, etiology and management. Ear Nose Throat J. 1997;76(suppl):1-22

OTTIS

OTTIS MEDIA AGUDA (OMA)

Es un proceso inflamatorio de la mucosa de revestimiento de las cavidades que constituyen el oído medio, caja del tímpano, células mastoideas y membrana timpánica. Es la enfermedad que mayor consulta pediátrica ha demandado en los últimos tiempos¹.

La patogénesis es compleja y están involucrados muchos factores tanto del huésped, del microorganismo y del ambiente. Un hisopado del oído no es recomendado para el diagnóstico de otitis media, debido a que esta muestra estará contaminada con la flora del canal del oído externo. La muestra de elección es la obtenida a través de timpanocentesis, siempre y cuando se confirme a través de otomicroscopia la presencia de exudado retenido en las cavidades de oído medio.

TOMA DE LA MUESTRA

La muestra para buscar el agente causal de otitis media debe ser obtenida a través de la punción de la membrana timpánica, conocida como timpanocentesis, este método invasivo, doloroso no está indicado en todos los pacientes. Las indicaciones de timpanocentesis son las siguientes:

1. Niños severamente enfermos o con síntomas tóxicos.
2. Menores de 3 meses, huéspedes inmunocomprometidos, o sospecha de microorganismo raro o inusual.
3. Pacientes con tratamiento antibiótico como profilaxis o tratamiento sin mejora.
4. Síndrome meníngeo.
5. Complicaciones supurativas intrapetro-

sas o endocraneales.

6. Respuesta no apropiada al tratamiento.

Por lo tanto en la gran mayoría de casos el tratamiento de la otitis media se basa en estudios epidemiológicos y el diagnóstico es generalmente clínico. **Si no hay material en el oído medio esta contraindicada la punción-aspiración.** Esto puede ser determinado a través del uso de un otoscopio neumático, que permite valorar la movilidad timpánica. La mayor incidencia de otitis media aguda se presenta entre los 6 y 24 meses de edad, conforme pasa la edad va declinando hasta que en la edad adulta es infrecuente^{2,3}. Una excepción a esta tendencia es la época de la entrada a la escuela entre los 5 y 6 años se observa un aumento. En los adultos los microorganismos implicados son los mismos que los de los niños⁴.

TIMPANOCENTESIS

Para la timpanocentesis se requiere de un otomicroscopio binocular, cánulas de aspiración, un espejito ótico, unas pinzas óticas, una jeringa de tuberculina de 1 ml, una aguja 3.5-in 22 espinal doblada en 30° para la succión, equipo de anestesia, hisopos y antisépticos. El paciente debe estar bajo anestesia general debido a que la incisión es sumamente dolorosa. Para la realización de la punción limpie el canal externo con solución antiséptica, (alcohol al 70% boricado a saturación por más de un minuto) pues este canal puede estar colonizado por *S. aureus* o *P. aeruginosa*. Luego de esta limpieza coloque una gasa a manera de tampón dentro del canal hasta que esté listo el médico. Puncionar la membrana timpánica en el cuadrante pos-

tero-inferior pues es la zona que presenta más declive y de esta manera se asegura el drenaje completo de la caja timpánica. Con la jeringa y agujas descritas arriba aspirar el líquido, éste puede ser seroso, mucoso o purulento⁵.

En el caso que se requiera drenaje terapéutico y diagnóstico se puede realizar una incisión de la membrana timpánica (miringotomía) y coleccionar tanto líquido como sea posible en un tubo de drenaje, o mediante un hisopo estéril. Para ello es importante un espejo ótico que impide la contaminación con la flora del canal ótico.

Luego de la punción se indican los cuidados locales de todo tímpano que presenta perforación espontánea o provocada para evitar la contaminación por gérmenes presentes en la piel del conducto. Esto consiste en: a) impedir la entrada de agua con tapón de algodón seco con una capa de vaselina sólida por fuera del mismo para impermeabilizarlo y b) instilación de alcohol al 70% boricado a saturación varias veces por día para limpieza de las cavidades del oído medio.

El material obtenido por incisión o punción debe ser enviado inmediatamente al laboratorio en el tubo de drenaje o en la misma jeringa de la punción a temperatura ambiente. No refrigere la muestra. Debe escribir en la hoja de pedido "material ótico obtenido por timpanocentesis" y no simplemente "cultivo de oído" o "secreción ótica". Además debe incluir datos clínicos relevantes del historial del paciente, si es una otitis crónica refractaria a los tratamientos, la edad, etc. A veces el material es tan escaso que se pierde gran parte al transferir al medio de transporte, por lo que está in-

dicado su transporte en la misma jeringuilla con su aguja. A pesar que el envío del material en esta forma no cumple con las normas de bioseguridad requeridas para el transporte de material biológico, esta es una excepción. Coloque un tapón de caucho en la aguja. Manipule con cuidado.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

La muestra obtenida por timpanocentesis, se sembrará en agar sangre de cordero, agar chocolate, agar McConkey y tioglicolato. Se incubará 48 horas a 35°C en atmósfera con un 5% de CO₂. En todas debe realizarse una tinción Gram. Excepcionalmente puede haber una solicitud para anaerobios, en tal caso sólo se sembrará en esta atmósfera si la muestra ha sido enviada en medio adecuado para anaerobios. La búsqueda de patógenos debe ir encaminada a *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pyogenes*, los principales agentes etiológicos bacterianos de la otitis media aguda. Los microorganismos frecuentes se encuentran en la tabla II-5, y cómo identificarlos con pruebas breves de laboratorio se encuentran en la tabla II-6.

Otros patógenos como *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* y hongos son causa excepcional de otitis media aguda. Los agentes más controversiales son los virus que se les considera agentes desencadenantes de infección bacteriana más que agentes etiológicos.

Tabla II-5

Microorganismos aislados en otitis media

	AGUDA	CRÓNICA
Frecuentes	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>	
Poco frecuentes	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Bacilos Gram negativos (BGN) ^c Anaerobios	Anaerobios BGN (<i>Proteus</i> , <i>E. coli</i> otros) Hongos (<i>Aspergillus Mucor</i> y otros)

Los BGN son causa de otitis media en el neonato

Tabla II-6

Breve diagnóstico por cultivo de los agentes bacterianos comunes de otitis media aguda, a través de pruebas microbiológicas básicas.

BACTERIA	MORFOLOGÍA A LA TINCIÓN GRAM	PRUEBA BÁSICA CONFIRMATORIA	INTERPRETACIÓN
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Diplococos Gram positivos lanceolados capsulados	1) Disco Optoquina 2) Prueba de solubilidad en bilis	1) Positivo: 16 mm de inhibición alrededor del disco 2) Positivo: Aclaración de la suspensión
<i>Haemophilus influenzae</i>	Cocobacilos Gram negativos o pequeños bacilos pleomórficos Gram negativos	1) Requerimiento de los factores V y X 2) Porfirina	1) Crece alrededor de los factores V y X. 2) Color rojo en el media es positivo
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Diplococos Gram negativos	1) Oxidasa 2) Fermentación de azúcares 3) Prueba de la ADNasa 4) Reducción de nitratos 5) Butirato esterasa	1) Positiva 2) Negativa 3) Positiva 4) Positiva 5) Positiva
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocos Gram positivos aislados en pares, tetradas o racimos	1) Coagulasa 2) Catalasa 3) Manitol salado 4) Novobiocina 5ug	1) Positiva 2) Positiva 3) Positiva 4) Sensible
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Cocos Gram positivos en cadenas	1) Bacitracina 0,04 ug 2) Prueba de PYR	1) Halo de inhibición 2) Positiva

OTITIS MEDIA CRÓNICA

Es la entidad clínica que se caracteriza por episodios de infección aguda con persistencia del contenido en el oído medio. En la otitis media crónica los agentes etiológicos suelen ser *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp*, *Staphylococcus aureus*, anaerobios (*Porphyromonas spp*, *Fusobacterium spp*, *Veilonella spp*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium*, etc.). También pueden ser ocasionada por flora polimicrobiana y en menor proporción por *H. influenzae*, *S. pneumoniae* y *M. catarrhalis*.

TOMA DE MUESTRA

La toma de muestra es igual que para la otitis media aguda descrita anteriormente.

OTITIS EXTERNA

Es la infección superficial del conducto auditivo externo y es similar a una infección que puede ocurrir en la piel y tejidos blandos, debido a las condiciones anatómicas del canal (estrecho y sinuoso), que favorecen que entren líquidos y cuerpos extraños y queden atrapados⁶. Puede ser localizada, difusa, crónica o maligna⁷. Los microorganismos implicados en esta patología se encuentran en la tabla II-7.

TOMA DE MUESTRA

Depende del tipo de otitis externa. Vea tabla II-7.

Tabla II-7

Agentes etiológicos de la otitis externa

OTITIS EXTERNA	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	MICROORGANISMO FRECUENTE	¿QUÉ CULTIVO?
Localizada	Pústulas o forúnculos o micro-abscesos asociados a folículos pilosos	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	El material obtenido por drenaje del absceso
Difusa (oído de nadador)	Inflamación y edema de la piel, prurito y dolor	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y otros bacilos Gram negativos	No está indicado el cultivo.
Crónica ^a	Iritación local producida por el material purulento proveniente del oído medio, membrana timpánica perforada, en una otitis media crónica supurada.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y otros bacilos Gram negativos	No está indicado el cultivo
Maligna (Adultos mayores, diabéticos, inmunocomprometidos)	Infección del CAE que abarca partes blandas adyacentes, vasos sanguíneos, cartilagos y hueso.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	La secreción ótica, realice hemocultivos

⁷ Puede ser causa, en forma muy esporádica otitis externa crónica la tuberculosis, sífilis, lepra, sarcoidosis y frambesia.

MASTOIDITIS

Una complicación de la otitis media puede ser la mastoiditis debido a su proximidad anatómica. En este caso se debe cultivar el fluido que sale por el conducto auditivo externo con cuidado especial de desinfección del canal externo. Si la membrana timpánica no se encuentra perforada, está indicada

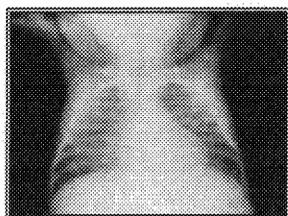
una timpanocentesis.

Los microorganismos que se recuperan son similares a los de la otitis media aguda y crónica. Una mastoiditis con otitis crónica puede erosionar el techo del antro y causar absceso del lóbulo temporal o extenderse y causar trombo-sis séptica del seno lateral.

BIBLIOGRAFIA

1. Schapper SM. Office visits for otitis media: United States, 1975-90. In: Vital and Health Statistics of the Centers for Disease Control and Prevention, 1992:214:3-18
2. Del Balcaro MA, Mendelman P, Inglis AF, et al. Bacteriology of acute otitis media. A new perspective. *J Pediatr.* 1992;120:81-84
3. Celin S, Bluestone C, Stephenson J, et al. Bacteriology of acute otitis media in adults. *JAMA.* 1991;266:2249-2252
4. Teele DW, Klein JO, Rosner B. Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in greater Boston. A prospective, cohort study. *J Infect Dis.* 1989;160:83-94
5. Brookhouser PE. Use of tympanometry in office practice for diagnosis otitis media. *Pediatr Infect Dis J.* 1998; 17:544-551
6. Hirsch BE. Disease of the external ear. In: Bluestones CD, Stool SE, eds. *Pediatric Otolaryngology*, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1996:378-387
7. Rubin J, Yu VL. Malignant external otitis: Insights into pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and therapy. *Am J Med.* 1988;85:391-398





III. INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

PREVIOUS PAGE BLANK

BEST AVAILABLE COPY



Los principales síndromes clínico-infecciosos del tracto respiratorio inferior constituyen: la bronquitis aguda, la bronquitis crónica y sus exacerbaciones, bronquiolitis, neumonía aguda y sus complicaciones, el derrame pleural y el empiema, los abscesos pulmonares y la fibrosis quística.

BRONQUITIS AGUDA

Es una inflamación del árbol traqueo-bronquial que se caracteriza clínicamente por la aparición de tos seca, que luego se hace productiva, dolor retroesternal de tipo urente (quemazón) con o sin fiebre y sin evidencia de neumonía. Está asociada con los virus respiratorios, tales como los rinovirus, adenovirus, virus influenza, etc. La participación bacteriana es rara y ocurre sobre todo en adultos y ancianos (*Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*). Hay un pequeño porcentaje de individuos que después de una epidemia de Influenza, desarrollan bronquitis persistente, sin que se haya podido establecer la razón. Un 20 a 25% de pacientes con tos persistente puede ser ocasionado por *Bordetella pertussis*. Debido a la amplia cobertura de vacunación en niños, actualmente el principal reservorio de *B. pertussis* son los adultos que fueron vacunados en la infancia pero ya no tienen anticuerpos contra esta bacteria¹.

La tosferina o coqueluche, causada por la *B. pertussis*, causó a nivel mundial en 1994, cuarenta millones de casos, con una mortalidad de 360.000 individuos, esta cifra actualmente se ha incrementado en forma notable con una incidencia mundial de cincuenta y un millones de casos con 600.000 muertes². Esta bacteria, además, puede producir neumonía en el 25% de los

niños. El 20% de los pacientes adultos hospitalizados pueden hacer consolidación pulmonar³.

La *Chlamydia pneumoniae* es también causa importante de bronquitis y de otras infecciones del tracto respiratorio superior. En adultos ocasiona el 5% de los casos de bronquitis, sinusitis y faringitis⁴, mientras que la *Chlamydia trachomatis* produce en lactantes un cuadro similar al coqueluche. Aproximadamente el 65% de los niños nacidos de madres infectadas se contagian con esta bacteria durante el parto y un 11 a 20% son afectados de neumonía⁵.

BRONQUIOLITIS

La bronquiolitis es una infección viral que ocurre en niños menores de 2 años y que se caracteriza por dificultad respiratoria e hiperventilación con tos y rinorrea. Causa además inflamación de los bronquios y bronquiolos que pueden llegar a obstruirse dificultando el flujo de aire⁶. Puede tener mal pronóstico si los afectados son prematuros y lactantes con cardiopatías de base⁷. El patógeno principal es el Virus Sincitial Respiratorio (VSR) pero también está implicado el virus Parainfluenzae tipo 1, 2 y 3, Rinovirus, Adenovirus, y en menor proporción virus de la Influenza, *Mycoplasma pneumoniae* y Enterovirus. El diagnóstico de bronquiolitis, se basa en las características clínicas y los hallazgos epidemiológicos.

El VSR es un agente muy importante dentro de esta patología respiratoria principalmente en niños. Es la causa más frecuente de hospitalización en niños menores de 2 años atribuible a infecciones respiratorias y pue-



de ser causa de infección nosocomial, por lo que es crucial la detección rápida de los niños que ingresen por este motivo, con el propósito de evitar la propagación a pacientes hospitalizados con factores de riesgo^{8,9}.

*En bronquitis aguda los cultivos rutinarios del esputo no son útiles debido a que éstos están contaminados con flora de la orofaringe y la sobreinfección por bacterias como *S. pneumoniae* y *H. influenzae* sigue siendo un tema de discusión.*

En bronquiolitis no son útiles los esputos.

Los hisopados naso-faríngeos y de la garganta, o en combinación pueden ser útiles para VSR.

TOMA Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA NASOFARÍNGEA.

La toma de muestra nasofaríngea es una toma muy útil para VSR, otros virus respiratorios, y para las bacterias como *Chlamydia spp.* y *Bordetella pertussis*. El espécimen debe ser tomado de tal manera que evite la contaminación con la flora nasal y oral y es realizada por el médico especialista. La nasofaringe es alcanzada insertando un pequeño y delgado hisopo a través ya sea de la nariz o de la garganta. Si es por vía nasal se recomienda el uso del espéculo nasal; esta toma puede ser realizada mediante:

1. Hisopo o escobillón delgado flexible (menor rendimiento). Debe introducirse con cuidado a través del orificio nasal hasta alcanzar la nasofaringe, en donde se deja unos 30 a 60 segundos para que los microorganismos se absorban.
2. Una alternativa es tomar la muestra a través de una sonda tratando de llegar hasta la parte posterior de las fosas nasales
3. El lavado nasofaríngeo es la técnica que ofrece una mayor capacidad de recuperación del microorganismo¹⁰.

Remueva las secreciones nasales o exudados que se encuentren en las fosas anteriores, inserte el espéculo nasal (opcional). Suavemente pase a través de la nariz y llegue hasta la nasofaringe. Rote el hisopo sobre la membrana nasofaríngea y déjelo por 10 a 15 segundos para que absorba los microorganismos. Retire suavemente el hisopo y colóquelo en un medio de transporte de acuerdo al microorganismo que desee se investigue (bacterias o virus). Para *Bordetella pertussis* coloque en el medio de Regan-Lowe u otro; para *Chlamydia* en el medio de transporte Sucrosa-fosfato-ácido glutámico (S.P.G.) y para el VSR en 2 o 3 ml de 2SP (partes iguales de 0,2 M sucrosa en 0.02 M buffer fosfato de sodio a 7.2 pH). Este tipo de toma de muestra también suele ser útil para detectar los portadores de *Neisseria meningitidis* para lo cual puede colocar en un medio de transporte Stuart.

Para la toma en niños proceda de la siguiente manera: realice un aspirado nasofaríngeo, mediante un catéter al cual se ha añadido una trampa de Lukens. Introduzca delicadamente la punta del catéter hasta que sienta resistencia. Retire el catéter 1 a 2 cm y aspire la muestra. Este tipo de muestra debe ser tomada por el pediatra o el personal de terapia respiratoria.



Si se recibe un hisopo grande tipo *Cultu-rette*, significa que no es una toma adecuada, pues se habría realizado un hisopado nasal, por lo tanto, puede rechazar la muestra, independientemente que la solicitud indique aspirado nasofaríngeo.

Para el diagnóstico etiológico del Virus Sincitial Respiratorio envíe una muestra nasofaríngea tomada con lavado nasal, que ha demostrado ser la toma con mayor recuperación del virus¹¹. La muestra debe ser tomada dentro de las primeras 24 horas del proceso infeccioso y enviada en el medio de transporte apropiado para virus. Recuerde que este virus es muy lábil a los cambios de temperatura y del pH por lo que el cultivo en líneas celulares debe ser tan pronto como sea posible¹². Alternativamente se puede enviar un hisopado nasofaríngeo junto con un hisopado amigdalino, a pesar que la recuperación no es tan buena como en el lavado nasal. El cultivo requiere de aproximadamente una semana (3 a 7 días) y es útil cuando las pruebas rápidas han sido negativas¹³. Pocos laboratorios asistenciales ofrecen el cultivo, y dependiendo de la experiencia del personal del laboratorio, la recuperación del virus puede ser baja. Sin embargo el cultivo ofrece la ventaja que concomitantemente se buscan otros patógenos respiratorios¹³. Una combinación de cultivo y pruebas rápidas suele ser ventajosa. Existen varias pruebas rápidas, entre las que podríamos mencionar:

1. Inmunofluorescencia
2. Radioinmunoensayo
3. Hibridización del ADN-ARN
4. PCR (reacción en cadena de la polimerasa)

Estas pruebas son sensibles y específicas y tardan unas cuantas horas en procesarse¹³. La serología no es útil para el diagnóstico de la fase aguda, pero puede serlo para estudios epidemiológicos¹⁴.

Si se sospecha de una infección por *B. pertussis*, la muestra ideal debe ser tomada a través del aspirado nasofaríngeo, o por lavado nasofaríngeo¹⁰ puede emplearse un hisopo de alginato de calcio ya que el de algodón inhibe el crecimiento, o se le pide al paciente que tosa directamente sobre la caja que contiene el agar, dentro de la primera semana de tos paroxística. La muestra debe ser enviada en un medio de transporte como una solución salina tamponada (PBS) o en caldo casoaminoácido o en el medio de Regan-Lowe, o en el medio hidrolizado de caseína (en inglés cold casein hydrolysate medium)¹⁵. El cultivo sigue siendo considerado como la prueba de oro para el diagnóstico de *pertussis*, a pesar que no es absolutamente específico y la sensibilidad es claramente limitada, alcanzando un 60%. Para *B. pertussis* se siembra por agotamiento en un medio selectivo como Bordet y Gengou suplementado con 20% de glóbulos rojos de cordero y 2,5 ug/ml de meticilina o cefalexina 40 ug/ml, debido a que las muestras nasofaríngeas son polimicrobianas. Anteriormente se recomendaba que el medio se debe preparar unas horas antes de la siembra, con una vida media de 1 semana, pero hoy se ha demostrado que puede durar hasta 2 meses en fundas plásticas cerradas en refrigeración. La muestra debe ser procesada dentro de 2 horas. Otros medios especiales que pueden ser utilizados son el Regan y Lowe (vida media de alrededor de 1 mes) o el Jones-Kendrick. Las placas se incuban a 35°C

en atmósfera húmeda durante 5 a 7 días. No requieren de CO_2 ¹⁶.

Como el cultivo no es absolutamente específico para el diagnóstico, y el tiempo que toman las colonias para crecer es largo, se han desarrollado varias pruebas rápidas como la detección directa de anticuerpos fluorescentes (F.A., del inglés fluorescent antibody)) en el frotis nasofaríngeo o la PCR¹⁷; el primero es utilizado ampliamente pero el resultado está sujeto a la experiencia del observador¹⁸; el segundo, en cambio, no está al alcance de todos los laboratorios asistenciales, a pesar de su especificidad y sensibilidad.

A pesar de las limitaciones del cultivo, y de la presencia de las pruebas rápidas, éste sigue siendo útil por dos razones: la variación de la resistencia antibiótica y las características fenotípicas y genotípicas de las poblaciones bacterianas que no está en capacidad de ser valorada por una PCR. La F.A. también se usa para identificar las colonias del cultivo directo. Como ya se mencionó la serología no es útil para la fase aguda.¹⁹

Debido a las limitaciones en las pruebas de laboratorio, el diagnóstico de *B. pertussis* se basa principalmente en los parámetros siguientes: tos paroxística de más de 21 días con confirmación de laboratorio y antecedentes epidemiológicos.²⁰

Si se sospecha de *C. pneumoniae*, la muestra tomada con cualquiera de las técnicas ya descritas, se coloca en el medio de transporte (vea capítulo 2) y se envía para cultivo en líneas celulares como McCoy, Hela y BGMK,²¹ pudiendo ser proce-

sadas para técnicas de biología molecular como PCR²². Si bien ésta última es una técnica sensible, aún no están aprobados métodos comerciales para muestras respiratorias, se utiliza por el momento solo con propósitos de investigación. La *C. pneumoniae* es una bacteria intracelular por lo que no se puede cultivar en los agares convencionales utilizados para las otras bacterias, ya que sólo crecen en líneas celulares.

La serología es el método más utilizado para documentar un cuadro infeccioso debido a *C. pneumoniae*. Existen dos métodos la microinmunofluorescencia (MIF) y la fijación de complemento (FC). El método que mejor detecta es el primero. Se debe extraer la sangre en la fase aguda y luego otra muestra en 3 a 4 semanas, en la fase de convalecencia. Nótese que no es a los 15 días, como en la mayoría de las serologías, en este caso es más tardía pues los anticuerpos pueden demorar en ser detectados. Debido a que pueden haber falsos positivos de IgM, si el suero contiene factor reumatoideo, se recomienda la absorción del suero con un reactivo anti-humano IgG. La fijación de complemento, que detecta los anticuerpos en contra de los lipopolisacáridos de la *Chlamydia*, no permite la diferenciación entre las tres especies: *pneumoniae*, *psittaci* y *trachomatis*²³.

Si se requiere cultivar cualquiera de los tres microorganismos descritos, las muestras son enviadas a un centro de referencia, debido a que en forma general no se procesan en los laboratorios de microbiología asistenciales u hospitalarios; no así las pruebas de inmunofluorescencia que pueden ser solicitadas a estos últimos, siempre que cuenten con personal capacitado.

EXACERBACIÓN AGUDA DE LA BRONQUITIS CRÓNICA

La bronquitis crónica es una enfermedad de etiología no infecciosa, definida por la presencia de tos y expectoración (excesiva producción de moco) la mayor parte de los días, durante al menos 3 meses al año en un período de 2 o más años consecutivos, sin otra causa que la justifique. El proceso puede ser leve, moderado o grave. Entre los factores importantes que contribuyen a la bronquitis crónica, debemos destacar los siguientes:

- 1) Humo de cigarrillo.
- 2) Infecciones virales y bacterianas.
- 3) Inhalación en ambientes contaminados (smog).
- 4) Alérgenos que causan respuesta alérgica.
- 5) Otros (defectos en los cilios, función anormal de los polimorfunucleares, etc).

Las agudizaciones o exacerbaciones de la bronquitis crónica se caracterizan por un incremento de sus manifestaciones clínicas. Se considera que aproximadamente más del 50% son de origen infeccioso, dos tercios bacterianos (*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*), en menor proporción *Mycoplasma* y *Chlamydia pneumoniae* y el resto virales. *P. aeruginosa* y las enterobacterias son frecuentes en los enfermos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) grave tratados habitualmente con corticoides y que han recibido antibióticos previamente. En las exacerbaciones de la bronquitis crónica existen factores que empeoran el pronóstico, tales como una edad mayor a 65 años, diabetes mellitus, cardiopatías, etc.

TOMA DE LA MUESTRA

El estudio del esputo en pacientes con exacerbación de la bronquitis crónica es todavía controversial, debido a que las bacterias aisladas pueden ser parte de la flora orofaríngea y no representativas de un proceso infeccioso. De hecho, en una coloración de Gram del esputo, vamos a observar tanto bacterias Gram positivas como negativas, e incluso si aislamos bacterias como *H. influenzae*, *S. pneumoniae* o *M. catarrhalis*, su presencia no indica que sean los agentes etiológicos de la exacerbación²⁴.

Rotule adecuadamente la muestra e indique la sospecha clínica. El primer esputo de la mañana puede ser de ayuda para evaluar a un paciente con exacerbación de la bronquitis crónica. Se debe valorar si es purulento, la cantidad de leucocitos, tanto neutrófilos como eosinófilos, la presencia de células ciliadas y de macrófagos alveolares con inclusiones citoplásmicas café-amarillentas. Realice una tinción de Gram. La presencia de un esputo muy purulento se ha asociado con el aumento del número de *Streptococcus pneumoniae* que normalmente estarían en el tracto respiratorio colonizándolo.

Un paciente con bronquitis crónica puede tener una colonización "crónica" de las vías respiratorias. Un caso típico de esto son las cepas no capsuladas de *H. influenzae* y *S. pneumoniae* en por lo menos el 50% de pacientes. Los *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* y los bacilos Gram negativos son frecuentes colonizadores del tracto respiratorio superior y son causa infrecuente de exacer-

bación de la bronquitis crónica. Entre el 5 al 10%, *Mycoplasma pneumoniae* puede ser una causa de la exacerbación pero en un grupo muy reducido de pa-

cientes. Entre el 1 al 10%, los virus pueden ser una causa importante de infección aguda aunque un tercio de pacientes pueden ser asintomáticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Menning ME, Shinefield HR, Edwards KM, et al. Prevalence and incidence of adult pertussis in an urban population. *JAMA*. 1996;275:1672-1674
2. Ivanoff B, Robertson SE. Pertussis: a worldwide problem (review). *Dev Biok Stand*. 1997;89:3-13
3. Postels-Multani S, Schmitt HJ, Wirsing von König CH, et al. Symptoms and complications of pertussis in adults. *Infection*. 1995;23:139-142
4. Tom DH, Grayston JT, Wang SP, et al. *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, *Mycoplasma pneumoniae* and viral infections in acute respiratory diseases in a university student health clinic population. *Am J Epidemiol*. 1990;139:681-687
5. Schachter J, Grossman M, Sweet RL, et al. Prospective study of perinatal transmission of *Chlamydia trachomatis*. *JAMA*. 1986;255:3374-3377
6. Everard ML, Milner AD. The respiratory syncytial virus and its role in acute bronchiolitis. *Eur J Pediatr*. 1992;151:638-651.
7. Holberg CJ, Wright AL, Martínez FD, et al. Risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. *Am J Epidemiol*. 1991;133:135-151
8. Hall CB, Douglas RG Jr. Nosocomial respiratory syncytial virus infection. *N Engl J Med*. 1979;300:393-396
9. Hall CB, Douglas RG Jr. Nosocomial respiratory syncytial virus infection: the role of gowns and masks on prevention. *Am J Dis Child*. 1981;135:512-515
10. Hallander HO, Reisenstein E, Renemar B, et al. Comparison of nasopharyngeal aspirates with swabs for cultures of *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol*. 1993;31:50-52
11. Hall CB, Douglas RG Jr. Clinical useful method for the isolation of respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis*. 1975
12. Hambling MH. Survival of the respiratory syncytial virus during storage under various conditions. *Br. J. Exp. Pathol*. 1964;45:647-655;131:1-5
13. Kellogg JA. Culture vs. direct antigen assays for detection of microbial pathogens from lower respiratory tract specimens suspected of containing the respiratory syncytial virus. *Arch Pathol Lab Med*. 1991;115:451-458
14. Tristram DA, Welliver RC. Respiratory Syncytial virus. In: Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, et al (eds): *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington DC: ASM Press; 1995;2-9
15. Hoppe JE: *Bordetella*. In Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, et al (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, D.C., American Society for Microbiology Press, 1999, pp 614-624
16. Honorato IM, Wassilak SGF. Laboratory diagnosis of pertussis: the state of the art. *Pediatr Infect Dis J*. 1987;6:145-151
17. Meade BD, Bollen A. Recommendations for use of the polymerase reactions chain in the diagnosis of *Bordetella pertussis* infections. *J. Med. Microbiol*. 1994;41:51-55

18. Broome CV, Fraser DW, English WJ. Pertussis-Diagnostic method and surveillance in: Manclark CR, Hill JC. Eds. Third International Symposium on Pertussis. Washington DC: US Department of Health, Education and Welfare-1978;19-22
19. Halperin SA. Interpretation of pertussis serologic tests. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1991; 10:791-792
20. Anonymus. WHO meeting on case definition pertussis. Geneva: World Health Organization. 1991;1:4-5
21. Kuo C-C, Grayston JT. A sensitive cell line HL cells for isolation and propagation of *Chlamydia pneumonia* strain TWAR. *J. Infect. Dis.* 1990;162:755-758
22. Campbell LA, Pérez-Melgosa M. Hamilton DJ, et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* by polimerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1988;26:813-815
23. Jackson LA, Grayston JT: *Chlamydia pneumoniae*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and practice of Infectious Diseases, ed 5. Philadelphia. Churchill Livingstone. 2000, pp 2007-2014
24. Murphy TF; Sethi S. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. *State of the art. Am. Rev. Respir. Dis.* 1992;146:1067-1083

NEUMONÍA

La neumonía es una infección del parénquima pulmonar. Es la infección respiratoria más grave, con una alta morbi-mortalidad. Los microorganismos producen la enfermedad luego de alcanzar el pulmón a través del árbol traqueo-bronquial o en menor proporción por vía hematogena. En los alvéolos crean un proceso inflamatorio con acumulación de líquido y células en lo que se conoce como consolidación, ésta impide o dificulta el intercambio gaseoso, se manifiesta por fiebre, escalofríos, malestar, disnea, tos, expectoración y a veces dolor pleurítico.

Es difícil documentar la causa microbiana en muchas de las infecciones del tracto respiratorio inferior (TRI) aun con métodos óptimos de cultivo y otros sistemas de diagnóstico muy finos¹. El diagnóstico microbiológico de la neumonía presenta algunos inconvenientes:

- 1) Hay una diversidad de agentes etiológicos que requieren de un abordaje diferente por parte del laboratorio para lograr el diagnóstico de cada uno de ellos. Ejemplo: neumonía por *Streptococcus pneumoniae*, o por *Legionella* o por *Mycoplasma*, o por *Hantavirus*.
- 2) Las secreciones que se obtienen del TRI se contaminan con la flora normal de la oro-faringe.
- 3) Es muy difícil, sobretodo cuando se trata de bacilos gramnegativos, establecer si el microorganismo aislado en el cultivo es un colonizador o es el agente causal del proceso infeccioso; en muchas ocasiones hallazgos como una *Klebsiella pneumoniae* o un *Staphylococcus aureus*, pueden encubrir el diagnóstico de una neumonía por *Streptococcus pneumoniae* o incluso una tuberculosis.
- 4) Muchas de las técnicas para obtener una muestra representativa de un pro-

ceso infeccioso del TRI, son invasivas y la única no invasiva, la recolección de una muestra de esputo, requiere la participación activa del paciente.

Lo óptimo para una recuperación aceptable del agente causal de una neumonía es que el paciente presente tos productiva, no haya recibido antibióticos y requiera hospitalización². A pesar de las limitaciones microbiológicas para el diagnóstico certero del agente causal de la neumonía, es importante tratar de llegar a ese diagnóstico siempre que sea posible. Hay varias razones para ello:

1. Hay un incremento mundial de la resistencia microbiana de los patógenos respiratorios y esto exige un diagnóstico más exacto. El aumento cada vez mayor de la resistencia ha condicionado que los esquemas terapéuticos empíricos sean revisados con cierta periodicidad³
2. Puede ser que la neumonía sea causada por microorganismos menos comunes, pero que siempre hay que tenerlos en mente, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Nocardia spp*, *Pneumocystis ji-*

- roueci*, otras micosis y *Legionella spp*.
3. Las manifestaciones clínicas de una neumonía son poco específicas para un agente patógeno en particular.

Es importante identificar a los patógenos causales a través de técnicas simples, precisas, no costosas y rápidas. Esto no siempre es posible mediante cultivos, por lo que el apareamiento de pruebas rápidas como detección de antígenos en suero u orina especialmente para neumococos y *Legionella*, pueden ser de utilidad.

Los agentes etiológicos de las neumonías varían de acuerdo con la edad, si se trata de una neumonía adquirida en la comunidad (NAC) leve o severa, si estamos frente a una NAC en un paciente con una enfermedad subyacente, o si es una neumonía por aspiración o de una neumonía adquirida en el hospital (nosocomial), etc. Los diferentes agentes etiológicos se encuentran en la tabla III-1 para el grupo pediátrico y en la tabla III-2 para el grupo de adultos de acuerdo a los diferentes síndromes.

Tabla III-1
Microorganismos causantes de Neumonía⁴

Pediatría		
NEONATOLOGÍA	NIÑO < 5 AÑOS	NIÑO > 5 AÑOS
<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> ⁴ <i>Staphylococcus aureus</i> Virus sincitial respiratorio Adenovirus Virus Parainfluenzae	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> Virus influenzae Virus parainfluenzae

Agente etiológico de neumonía en el primer año de vida.

Tabla III-2

Microorganismos causantes de Neumonía^{5,6,7,8,9}

Adultos		
TIPO DE NEUMONÍA	MICROORGANISMOS IMPLICADOS	
Neumonía adquirida en la comunidad (NAC)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (16 a 60%). <i>Haemophilus influenzae</i> (3 a 15%). <i>Staphylococcus aureus</i> (2 a 5%). Bacilos Gram negativos (7 a 18%) ^a <i>Legionella</i> spp. (muy variable geográficamente). <i>Moraxella catarrhalis</i> (1 a 2%) Únicamente en áreas endémicas; <i>Francisella tularensis</i> <i>Bacillus anthracis</i> <i>Yersinia pestis</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> ^b <i>Chlamydia pneumoniae</i> ^b <i>Coxiella burnettii</i>	
NAC en el adulto mayor	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (20 a 60%) <i>Chlamydia pneumoniae</i> (>21%) <i>Haemophilus influenzae</i> (7 a 11%) <i>Mycoplasma pneumoniae</i> (10%) <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> (grupo B) <i>Legionella</i> spp. <i>Moraxella catarrhalis</i> Virus respiratorios (10%)
NAC en pacientes con SIDA	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (<i>carinii</i>) (85%) <i>Rodococcus equi</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> Citomegalovirus
NAC severa ^c	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Legionella pneumophila</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> (11%)
Neumonía por aspiración	<i>Staphylococcus aureus</i> Bacilos Gram negativos aerobios <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Eikenella corrodens</i> <i>Bacteroides</i> spp.,	<i>Porphyromonas</i> spp, <i>Prevotella melaninogenica</i> , <i>Fusobacterium</i> spp y cocos gram positivos anaerobios
Infiltrado pulmonar con eosinofilia	<i>Mycobacterium</i> <i>Brucella</i> <i>Chlamidia psittaci</i> <i>Coccidioiíes</i> <i>Histoplasma</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Strongyloides</i> , <i>Echinococcus</i> , <i>Paragonimus</i> , <i>Dirofilaria immitis</i> , <i>Ancylostoma</i> , <i>Schistosoma</i> , Larva migrans cutánea y visceral.
Neumonía nosocomial	Temprana: < 4 días hospitalización <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Tardía: > 4 días hospitalización BGN: <i>Klebsiella</i> , <i>E. coli</i> , <i>Serratia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> (60%) <i>Staphylococcus aureus</i> (13-40%) <i>Streptococcus pneumoniae</i> (3-20%)

- a. Bacilo Gram negativo (BGN). La faringe puede colonizarse por BGN en individuos con diabetes mellitus, alcoholismo crónico o enfermedad debilitante y en ancianos encamados o que no pueden valerse por sí mismos. Pueden ser también *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* u otros BGN, si el paciente ha recibido tratamiento antibiótico, o tiene granulocitopenia.
- b. Agentes etiológicos de la "Neumonía Atípica", término que está en desuso.
- c. 10% de la NAC requiere ICU o ventilación mecánica

BEST AVAILABLE COPY

NEUMONÍA NOSOCOMIAL

La neumonía nosocomial se define como un infiltrado pulmonar en un paciente que ha estado hospitalizado más de 48 horas y que no estaba incubando el proceso infeccioso al ingreso. La neumonía nosocomial más frecuente en unidades de cuidados intensivos (UCI) es la asociada al ventilador (NAV); ésta es considerada como temprana cuando aparece hasta 4 días de la intubación; tardía cuando la neumonía aparece en un período mayor a los 4 días. La etiología de cada una de ellas es diferente, como se describe más adelante. La neumonía constituye el 13 al 18% de todas las infecciones nosocomiales con una mortalidad del 27% al 33%,¹⁰ sin embargo en UCI estos porcentajes son más elevados. Muchos factores están implicados, pero los principales son: estancia hospitalaria, aspiración, intubación y bacteriemia. La falta de cambios de posición en el paciente intubado en la ICU, el decúbito supino y la colonización orofaríngea también se ha relacionado como factores desencadenantes de neumonía adquirida en el hospital¹¹. Un determinante importante de la gravedad y el pronóstico en neumonías adquiridas en el hospital es la reserva fisiológica subyacente del sistema cardiopulmonar. Debido a que muchos pacientes que desarrollan neumonías nosocomiales son de edad avanzada, no sorprende que la falta de movilidad y el incremento de la incidencia de aspiración, intubación prolongada y deterioro de la función cardiopulmonar contribuyan a la mortalidad y morbilidad de neumonías nosocomiales en sala e ICU del hospital¹².

La neumonía nosocomial presenta dilemas diagnósticos y terapéuticos al médico.

Hay dos dificultades mayores con los pacientes que pueden tener neumonías adquiridas en el hospital. El primer problema es el establecimiento de un diagnóstico clínico. Ninguna infección nosocomial tiene tantos trastornos que se presentan de una forma similar y que causan tanta confusión diagnóstica. En contraste con las NAC, en las que el aspecto de la radiografía de tórax y la tinción de Gram o el cultivo de esputo pueden ser útiles en el diagnóstico, en las neumonías nosocomiales no suelen ser útiles ni el aspecto de la radiografía del tórax, ni los cultivos de la secreción respiratoria. El segundo problema es la limitación de los procedimientos microbiológicos para muestreo, utilizados en la obtención de especímenes microbiológicos de las vías respiratorias y que generan datos contradictorios¹³. Existen procedimientos diagnósticos invasivos como son la biopsia transbronquial, percutánea y de pulmón abierto, pero rara vez se practican especialmente en los pacientes que se encuentran con asistencia ventilatoria mecánica. Por otro lado, persiste la controversia sobre su utilidad en el diagnóstico de neumonía nosocomial asociada al ventilador.^{14,15}

La neumonía nosocomial se ha caracterizado como temprana y tardía. La primera sucede dentro de los primeros cuatro días de hospitalización y la segunda después de este tiempo. Esta clasificación es importante pues se ha demostrado que en la neumonía nosocomial temprana los microorganismos implicados en el proceso infeccioso son los mismos que los causantes de la NAC (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*), mientras que en la neumonía nosocomial tardía los microorganismos implicados son principalmente

bacilos Gram negativos tipo *E. coli*, *Serratia spp*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, también los no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp*. y dentro de los cocos Gram positivos los *Staphylococcus aureus*^{16,17}. Esto está relacionado con la colonización orofaríngea y con la colonización gástrica en los pacientes de UCI, la incidencia de NAV en los pacientes colonizados se incrementa notablemente en relación con los no colonizados.

TOMA DE LA MUESTRA

Para el diagnóstico de una neumonía se disponen de métodos no invasivos convencionales como es la recolección de una muestra de esputo y otros más agresivos que requieren un abordaje invasivo. El laboratorio de microbiología juega un rol importante en la ayuda diagnóstica; cualquiera que sea el método empleado en la obtención de la muestra debe estar en capacidad de procesarlo correctamente¹⁸. La utilidad de los métodos convencionales microbiológicos para el diagnóstico etiológico de las infecciones del TRI, principalmente para las NAC es aún controversial¹⁹.

Las muestras obtenidas por métodos invasivos son:

- Lavado bronquial
- Lavado bronco-alveolar
- Cepillado bronquial
- A través de toracocentesis: líquido pleural y empiema
- Biopsia pulmonar

Es importante recalcar que todos estos métodos invasivos conllevan un riesgo y costo

para el paciente, por lo tanto todos ellos deben estar protocolizados en cada hospital, para evitar errores, confusiones y pérdida de muestras. Todas estas muestras deben ser procesadas a cualquier hora del día.

El esputo es un material adecuado para diagnóstico de Neumonía adquirida en la comunidad (adulto competente) e inadecuado para diagnóstico de Neumonía nosocomial y Neumonía asociada a ventilación mecánica.

ESPUTO

Si bien el esputo es la muestra respiratoria que se obtiene por metodología menos agresiva, es también una muestra que inevitablemente se encuentra contaminada por flora de la oro-faringe por lo que su valoración e interpretación de los hallazgos debe ser siempre cuidadosa; a pesar de ello, en muchos casos el esputo sigue siendo una ayuda para el diagnóstico²⁰. Para su procesamiento se deben considerar algunos inconvenientes: la contaminación con saliva, el paciente no puede tomar una segunda muestra o una vez que se ha logrado su recolección puede permanecer horas en la mesita de luz del paciente o en la estación de enfermería antes de que llegue al laboratorio. Por lo tanto, con una inadecuada forma de recolectarlo y de transportarlo, el cultivo del esputo puede ser una pérdida de tiempo, de dinero y más que nada, confunde el diagnóstico. Para que sea útil el sembrar una muestra de esputo se debe cumplir con los siguientes requisitos²¹.

- La muestra de esputo debe ser enviada al laboratorio para su procesamiento dentro de las 2 horas de recolectada, en un recipiente estéril de boca ancha y tapa rosca.
- Si esto no es posible refrigerarlo (4 a 8°C) pero no más de 24 horas, para evitar la proliferación de flora comensal y evitar la pérdida de viabilidad de microorganismos como *S. pneumoniae* y *H. influenzae*.
- Una muestra adecuada para cultivo en un paciente inmunocompetente es la que tiene en la tinción Gram o Giemsa, más de 25 polimorfonucleares y menos de 10 células epiteliales de descamación por campo (bajo aumento 100X)
- Para estudios bacterianos envíe una muestra de más de 1 ml de esputo.
- Para investigación de *Mycobacterium* realice un seriado de 3 días consecutivos. Estas pueden almacenarse hasta 5 días en refrigeración sin perder la viabilidad. Enviar aproximadamente 5 a 10 ml.
- Para la investigación de virus deben enviarse muestras refrigeradas pero no congeladas.
- Para la investigación de *Chlamydia*, el esputo debe ser colocado en 2SP (sucrosa-fosfato) y enviarse congelado.
- Para la investigación de hongos deben enviarse inmediatamente, a temperatura ambiente, de 3 a 5 ml de esputo.
- Para la investigación de *Paragonimus* u

otros parásitos, el esputo debe enviarse a temperatura ambiente y en una cantidad de 3 a 5 ml.

- No envíe la muestra de esputo para cultivos de anaerobios.
- No recolecte el esputo en 12 ó 24 horas para cultivo, ni para ninguna otra prueba, debido al crecimiento bacteriano excesivo y a la pérdida consecuente de su valor diagnóstico.

Para la obtención de la muestra de esputo se necesita que el paciente esté alerta y colabore con la recolección. Es importante indicar al paciente que la muestra debe ser obtenida por expectoración o tos profunda y no recoger saliva (escupir). El esputo se obtiene luego de una expectoración profunda después de haberse enjuagado la boca con agua, e incluso puede haber un cepillado previo de los dientes. Después de esta sencilla higiene oral, la muestra debe ser recolectada en un frasco estéril de boca ancha y tapa de rosca. Los recipientes para la recolección de orina son apropiados; se deben rechazar las muestras que vienen en cajas para heces u otro tipo de cajas, envases caseros, etc.²² En algunos hospitales la toma de la muestra es responsabilidad del personal de terapia respiratoria, pero independientemente de quien sea el responsable de la toma, debe enviarse inmediatamente al laboratorio. Si esto no es posible, el esputo se colocará en refrigeración, pero esta muestra sólo servirá para cultivo de *Mycobacterium* y hongos. Recuerde que bacterias como *Haemophilus* y *Streptococcus pneumoniae* son muy frágiles al enfriamiento. No se rechazará ninguna muestra que haya sido remitida al laboratorio des-

pues del tiempo recomendado, sin embargo su mala conservación debe registrarse en el informe. Los esputos para investigación de hongos deben ser procesados inmediatamente, no obstante se ha observado crecimiento de hongos aún después de 16 días de guardados.

En ocasiones, los pacientes no logran obtener una muestra de esputo, en estos casos puede ser muy útil la producción de esputo mediante inducción. Esto se logra mediante aerolización con una solución salina hipertónica (3 a 10%). Esta técnica es llevada a cabo por un fisioterapeuta respiratorio. El esputo inducido no incrementa la recuperación de bacterias, hongos o micobacterias, pero si es de mucha ayuda para el diagnóstico de *Pneumocystis jiroveci (carinii)* en individuos inmunocomprometidos. El esputo por inducción es útil para recuperar hongos y micobacterias cuando no se puede obtener una muestra de esputo.²³

Los niños menores de 5 años tampoco pueden recolectar una muestra de esputo, en estos casos se recurre a procedimientos invasivos como aspirado traqueal a través de un catéter insertado por una laringoscopia directa y en niños muy enfermos se

pueden obtener un aspirado pulmonar percutáneo, hemocultivos, líquido pleural; todas estas técnicas de recolección, a excepción del hemocultivo, son realizadas por el pediatra especialista. Para estudios de *Mycobacterium*, suele ser útil el aspirado gástrico para cultivo.

PROCESAMIENTO DEL ESPUTO

Una vez que el esputo llega a la mesa de trabajo, se debe inspeccionarlo en forma macroscópica y rechazar aquellas muestras que están constituidas por saliva y que por lo tanto son inadecuadas para cualquier estudio microbiológico. Los esputos que pasen la selección deberán someterse a una valoración microscópica, para ello se realiza una coloración de Gram y se observa con el objetivo 10x contando el número de leucocitos polimorfonucleares y de células epiteliales de descamación por campo.

Es difícil evitar la contaminación de las muestras de esputo con las secreciones del tracto respiratorio superior por lo tanto existe un sistema para clasificar la calidad del esputo y su validez para ser procesado, este es el sistema de Murray y Washington²⁴:

GRUPO	CÉLULAS EPITELIALES 10X	LEUCOCITOS 10X
Grupo 1	>25	<10
Grupo 2	>25	10 a 25
Grupo 3	>25	>25
Grupo 4	10 a 25	>25
Grupo 5	<10	>25



El grupo 1 a 4 indica contaminación con secreciones oro-faríngeas, y debe repetirse la muestra. Solamente el grupo 5 indica un espécimen relevante o de buena calidad. Las muestras que se encuentren en el grupo 5 serán observadas con objetivo de inmersión para valorar la flora predominante si es extra o intra-leucocitaria (fagocitosis) y otros datos que pueden ser de interés para la interpretación de los cultivos subsiguientes. Figura III-1. Otra forma es dividir el número de leucocitos para el número de células epiteliales si es >5 se considerará significativo. Estos conceptos no son válidos para tuberculosis ni micosis, entidades en donde esputos de mala calidad (salivosos) pueden detectarse estos dos patógenos. Tampoco son válidos en pacientes inmunocomprometidos y en muestra de esputo obtenidas por inducción. La forma más simple y aplicable, principalmente en pacientes con inmunodepresión, es un esputo con menos de 25 células epiteliales por campo con aumento 100X; estas muestras son consideradas representativas y deben sembrarse, independiente del número de leucocitos.

En las muestras de esputo pueden realizarse varios estudios y tipos de tincio-

nes, que son de ayuda diagnóstica, éstas son:

- Coloración Gram²⁰
- Coloración Giemsa
- Coloración Kinyoun
- Coloración Azul de Toluidina
- KOH
- Fresco
- Calco-fluor

COLORACIÓN GRAM (Hans Christian Gram, médico danés, 1853-1931)

Permite evaluar la cantidad y morfología bacteriana (bacilos y cocos) y sirve también para la celularidad²⁵. Es importante anotar la cantidad de bacterias y si observamos fagocitosis y filamentos de mucina. Una forma común de reporte en relación con el número de bacterias observadas es el siguiente²⁶:

Escasas	0-9 bacterias por campo (1000X)
Moderada cantidad	10-15 bacterias por campo (1000X)
Abundantes	>15 bacterias por campo (1000X)



*Figura III-1
Coloración de Gram de una muestra de esputo. Obsérvese la gran cantidad de células epiteliales de descamación de la mucosa bucal y muy pocos leucocitos. Estos esputos son considerados contaminados con saliva y no deberían ser cultivados pues no aportarán sobre el agente etiológico de la neumonía (Aumento de 100X)*

BEST AVAILABLE COPY



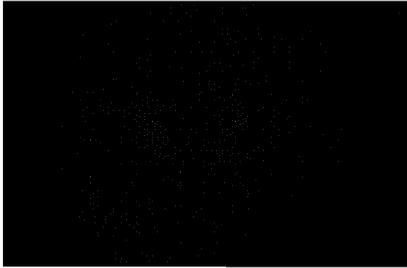
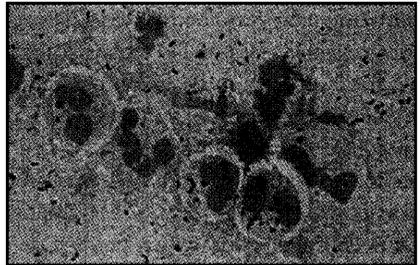


Figura III-2
Coloración de Gram de una muestra de esputo con predominio de leucocitos polimorfonucleares y muy pocas células epiteliales de descamación. La siembra de este tipo de muestra está recomendada (aumento 100X)

Figura III-3
Coloración de Gram de una muestra de esputo con un predominio de diplococos Gram positivos lanceolados encapsulados en asociación con leucocitos polimorfonucleares (aumento de 1000X)



BEST AVAILABLE COPY

En las neumonías adquiridas en la comunidad (NAC) la presencia de >10 diplococos grampositivos lanceolados encapsulados, por campo, sugiere un *Streptococcus pneumoniae* en el 10% de los casos. La especificidad de la coloración de Gram para NAC ocasionada por esta bacteria es del 85% con una sensibilidad del 62%²⁷.

Todos los informes de cultivo de las muestras provenientes de infecciones del tracto respiratorio inferior deben ir acompañadas de los datos observados en la coloración de Gram.

Una coloración de Gram con una gran cantidad de glóbulos blancos en la que no se observen bacterias, sugiere que

puede ser una patología atribuible a virus, *Mycoplasma*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella* y *Mycobacterium*. Cuando no observemos muchos glóbulos blancos y no exista una bacteria predominante, la valoración por microscopia no es útil.

COLORACIÓN ZIEHL-NEESEN.
(Franz Ziehl, médico alemán, 1862. Friederich Karl Adolf Neelsen, médico alemán. 1854-1894)

Permite la detección de bacilos alcohol ácido resistentes por campo. El reporte, cuando se investiga tuberculosis, se realiza de acuerdo a la tabla siguiente:

Tabla III-3

Cuantificación de los resultados de frotis teñidos por el método de Ziehl-Neelsen para muestras de esputo^{a,b}

NÚMERO DE BACILOS ACIDORRESISTENTES	CAMPOS	INFORME
ningún bacilo ácido resistente	Por cada 100 campos de inmersión	No se observan bacilos acidorresistentes
1 a 9 bacilos acidorresistentes	Por cada 100 campos	Registre la cifra exacta (1 a 9 bacilos acidorresistentes por cada 100 campos)
10 a 99 bacilos acidorresistentes	Por cada 100 campos de inmersión	1+ (10 a 99 bacilos acidorresistentes por cada 100 campos de inmersión)
1 a 10 bacilos acidorresistentes	Por campo	2+ (1 a 10 bacilos acidorresistentes por campo en 50 campos)
Más de 10 bacilos acidorresistentes	Por campo	3+ (Más de 10 bacilos acidorresistentes por campo en 20 campos)

^a Si el resultado es de tres o menos bacilos en 100 campos no puede establecerse una correlación adecuada con un cultivo positivo.

^b Tomado de "Los servicios de laboratorio en el Control de la tuberculosis". Organización y Gestión. Primera parte. WHO/TB/98.258.

COLORACIÓN GIEMSA (Gustav Giemsa, químico bacteriólogo alemán, 1867-1948)

Es más específica que la coloración Gram, pues sirve para evaluar la calidad de la muestra a través del estudio citológico: la cuantificación de las células epiteliales escamosas, de los leucocitos segmentados, eosinófilos y piocitos. Además esta coloración permite en ciertas circunstancias observar hongos, protozoarios y helmintos.

Figura III-4
Huevo de *Paragonimus spp* visto en el fresco de un esputo. Obsérvese el opérculo del huevo.

EXAMEN EN FRESCO

Permite la visualización de parásitos y hongos, sobretodo si se utiliza con microscopia de contraste de fase 400X. Es útil para la búsqueda de huevos de *Paragonimus spp* Figura III-4



KOH (Hidróxido de potasio al 40%)

Permite la visualización de los hongos. Es un estudio directo. Se coloca con una pipeta Pasteur unas gotas de esputo y unas gotas de KOH al 40%, se emulsiona y se deja reposar unos 10 minutos y se observa al microscopio con aumento 400.²⁸

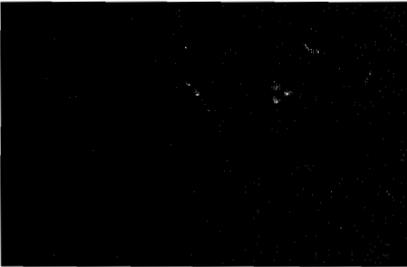


Figura III-5
Esputo con un montaje de KOH al 40%. Obsérvese las
hifas tabicadas sugestivas de *Aspergillus* spp

- Muestras de esputo inadecuadas, o con demora en el transporte y procesamiento, generalmente producirán aislamientos erróneos que no son la verdadera causa de la neumonía.
- Las muestras de esputo deben ser colectadas antes de empezar la terapia antimicrobiana debido a que muchos microorganismos causantes de neumonía son inhibidos una vez que se han iniciado los antibióticos.
- El diagnóstico microbiológico de una NAC puede ser útil en el 50% de los pacientes; sin embargo este porcentaje puede ser mayor en los siguientes casos:

- 1) Pacientes con esputo productivo;
- 2) Pacientes sin terapia antimicrobiana previa; y,
- 3) Enfermos que requieren de hospitalización para el manejo de su neumonía.

BLANCO DE CALCO-FLUOR

Es un agente blanqueador que se liga a la quitina y celulosa del hongo. Permite la visualización de hongos y de *Pneumocystis jiroveci* (*carinii*), los cuales aparecen de un color blanco brillante, fluorescente. Es una técnica más sensible que el montaje directo con KOH, pero requiere de un microscopio de fluorescencia²⁸

En conclusión, cuando procese una muestra de esputo recuerde:

- El diagnóstico por laboratorio a través del cultivo de una muestra de esputo para establecer una causa específica de NAC está indicado en pacientes severamente enfermos que requieren hospitalización.

ASPIRADO TRAQUEAL O SECRECIÓN BRONQUIAL

Es una técnica solicitada cuando el paciente no puede expectorar, cuando no está claro el agente patógeno potencial, cuando hay una mala respuesta a la terapia basada en el esputo expectorado. Es el método más simple de obtención de secreciones traqueo-bronquiales en el paciente con asistencia respiratoria mecánica. Sin embargo un aspirado endotraqueal raramente resulta negativo en un paciente con fiebre y ventilado; el gran número de resultados falsos positivos, básicamente por el aislamiento de colonizadores de la vía aérea superior puede inducir a un sobre-diagnóstico de neumonía. No dejan de ser muestras potencial-

mente contaminadas, si bien menos que el esputo²⁹.

La toma de la muestra es a través de una traqueostomía o del tubo endotraqueal. Se utiliza un catéter de polietileno para aspirar las secreciones con una jeringa de 20 ml. Rotule la muestra, indique el diagnóstico sospechado y los antimicrobianos que está recibiendo el paciente.

No refrigere la muestra y téngala inmediatamente al laboratorio.

Algunos estudios han demostrado la alta sensibilidad y especificidad de los cultivos cuantitativos de las secreciones obtenidas mediante este método en el diagnóstico de neumonía nosocomial cuando el recuento es $>10^5$ ufc/ml.³⁰ para algunos autores y $>10^6$ ufc/ml para otros.

TABLA III-4

Sensibilidad y especificidad del aspirado traqueal de acuerdo al número de unidades formadoras de colonias³¹

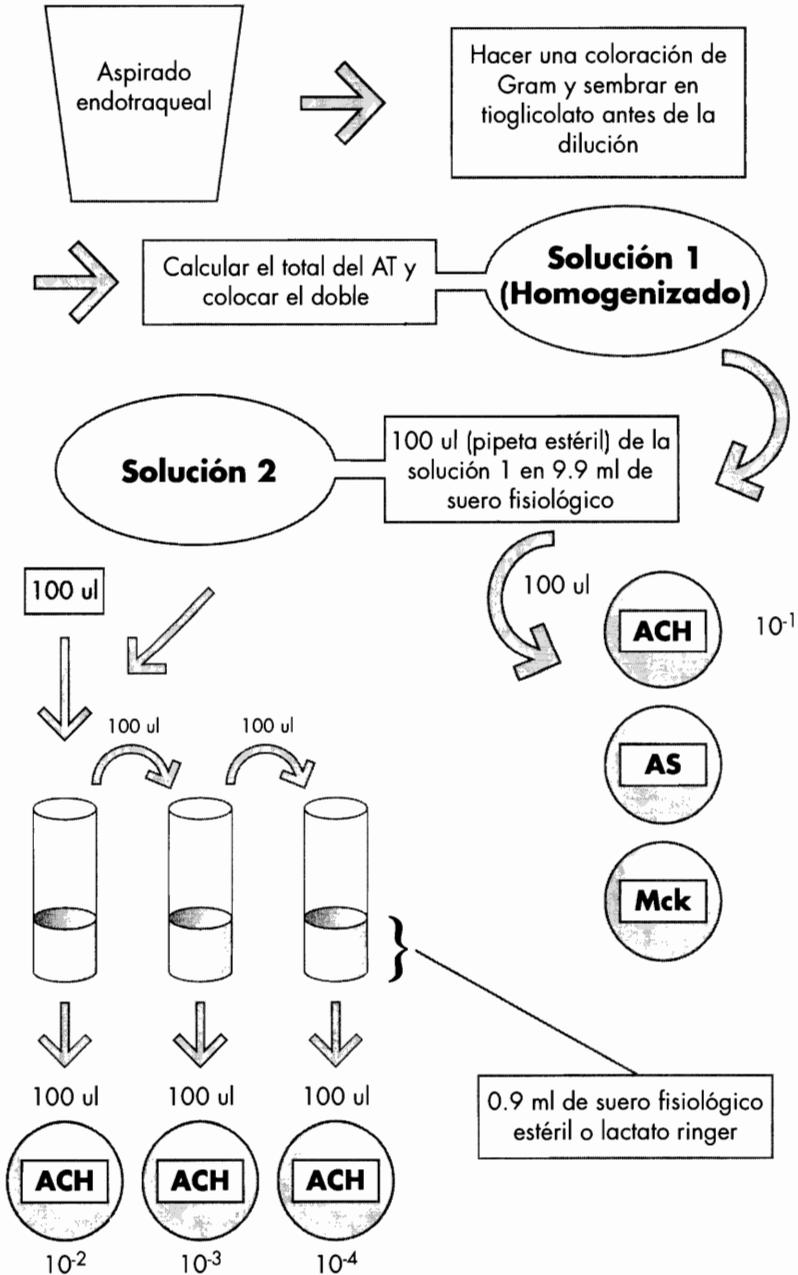
DILUCIÓN	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD
$>10^9$	90%	26%
$>10^8$	84%	40%
$>10^7$	79%	66%
$>10^6$	68%	84%
$>10^5$	21%	92%

Tomado de: Jourdain B, Novara A, et al. Role of Quantitative Cultures of Endotracheal Aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152: 241-246

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA DE ASPIRADO TRAQUEAL (AT)

- Haga una tinción de Gram. (Siempre antes de diluir el AT)
- Coloque el aspirado traqueal en un tubo y establezca la cantidad para poner el doble de Flumucil® al 1%. Esta es la solución 1. Agite en el vortex.
- Prepare tres tubos con 1 ml de suero salino
- De la solución 1 saque 100 ul con

- punta estéril y coloque en 9,9 ml de suero salino estéril (solución 2).
- A partir de la solución 2 haga diluciones seriadas con los tres tubos que preparamos en el paso 3.
- La solución 1 siembre en tres cajas que contengan agar sangre (AS) agar chocolate (ACH) y otra con agar McConkey (McK) con un asa de orina calibrada de 100 ul como si fuera orina.
- De las diluciones seriadas siembre 100 ul sólo en ACH



LAVADO BRONQUIAL

El lavado bronquial fue una metodología empleada en el pasado para el diagnóstico de neumonía no bacteriana en pacientes inmunocomprometidos, pero actualmente es muy útil en el diagnóstico de neumonía bacteriana nosocomial. El obtener una muestra de lavado bronquial requiere de métodos agresivos por lo que se justifica una búsqueda exhaustiva de microorganismos independientemente de la calidad de la muestra, aún si la justificación clínica no es del todo clara³².

- El lavado se recolecta a través de un broncoscopio de doble-luz, con un telescopio con doble catéter con un tapón distal de polietilenglicol.
- El área involucrada del pulmón debe ser accesible.
- Utilice lidocaína (2%) para anestesia.
- Para el lavado puede emplear lactato Ringer o solución salina.
- Una trampa de Lukens para colocar la muestra.
- Una jeringa slip Luer de 20 ml, un cepillo de citología y xilocaína al 4%. Anestesia el área haciendo que el paciente inhale por la boca y exhale por la nariz.
- Lubrique ambas fosas nasales con gel de xilocaína.
- El paciente puede también necesitar un sedante intravenoso para tolerar el procedimiento.
- Coloque al paciente en la posición semi-Fowler.
- Lubrique el broncoscopio con 2% de gel de xilocaína evitando topar el extremo distal.
- Introduzca el broncoscopio transnasalmente.

- Adhiera la trampa de Lukens al broncoscopio.
- Instile 10 ml de solución salina estéril a través del canal abierto
- Aspire el material.
- Selle el tubo Lukens y envíe al laboratorio.

El lavado se centrifuga a 3000 r.p.m. en una citocentrífuga. Se trabaja con el sedimento como si se tratara de esputo. No está estandarizado un punto de corte del número de colonias que indique que el microorganismo aislado sea un colonizador o un agente patógeno. No se considera una buena muestra para investigar bacterias convencionales causantes de neumonía, pero es excelente para hongos, micobacterias y *P. carinii*. El lavado bronquial suele ser útil en aquellos pacientes en quienes el lavado bronco-alveolar ha sido técnicamente difícil y no se ha logrado recuperar una cantidad adecuada del líquido de retorno³³.

LAVADO BRONCO-ALVEOLAR

Esta es una técnica utilizada para lavar células de las vías aéreas que el broncoscopio no alcanza. El objetivo es lavar el lóbulo comprometido, aunque el lavado bronco-alveolar (LBA) bilateral incrementa la recuperación de ciertos patógenos. Es particularmente útil en pacientes con VIH-SIDA, pacientes con ventilación mecánica y en menor proporción otros con neumonía^{34,35,36}.

- Adhiera una trampa de 70 ml al broncoscopio. En un adulto instile fuertemente 100 ml de solución salina estéril a través del canal en alícuo-

tas de 20 ml. En pacientes pediátricos solamente se debe instilar 1 a 2 ml /Kg de peso. Generalmente menos de 10 ml es recuperado en los niños. (Si se colectan más de 10 ml la centrifugación de la muestra mejora la recuperación en el cultivo y la visualización en las tinciones).

- Después de la tercera o cuarta instalación reemplace la trampa de 70 ml con una de 40 ml.
- Envíe al laboratorio las dos trampas (rotule trampa de 70 ml y trampa de 40 ml) La primera que se recupera es la más contaminada con las secreciones purulentas proximales y es muy útil para hongos, micobacterias y *P. jeroveci (carinii)*. No hacer cultivos cuantitativos con el líquido de esta trampa. La segunda trampa sirve para cultivos cuantitativos y la investigación de bacterias.
- Si no desea enviar las trampas retire asépticamente 10 ml de líquido de cada trampa y coloque en dos tubos estériles y envíe al laboratorio rotulados tubo 1 y tubo 2 y proceda igual que con lo descrito para las trampas.
- No refrigere estas muestras y envíelas inmediatamente al laboratorio. Deben ser procesadas dentro de las 2 horas de recolección, de lo contrario refrigerar hasta 24 horas (4-8°C).

El lavado bronco-alveolar permite lavar alrededor de 1×10^6 alvéolos pulmonares que corresponde aproximadamente al 1% del parénquima pulmonar y lo que se recolecta es aproximadamente 1 ml de secreciones que se diluyen en 10-100 ml de fluido de retorno. El volumen del retorno es de 40% a 70% del líquido total.

Para la siembra del lavado bronco-alveolar se obtiene 1 ml de lavado en 10-100 ml de volumen de retorno, se realiza una dilución de 1:10 ó 1:100, el punto de corte es de 10^4 ufc/ml.³⁶ El lavado bronco-alveolar parece ser eficaz para el diagnóstico de neumonía asociada al ventilador³⁷ y, como ya se mencionó, para otras patologías respiratorias su eficacia es limitada.

CEPILLADO BRONQUIAL PROTEGIDO (CBP o PBB)

El cepillado bronquial está indicado en pacientes con neumonía asociada a la ventilación mecánica. No es un método empleado para el diagnóstico de NAC, tiene una sensibilidad de 82 al 100% y una especificidad de 60 a 77% y un valor predictivo positivo del 43 al 74% y un valor predictivo negativo del 85 al 100%^{38,39,40}

Para el cepillado bronquial doble luz

- Inserte el cepillo citológico en el canal abierto del broncoscopio y avance a través de él.
- Saque el cepillo y obtenga el material cepillado.
- Coloque toda la unidad del cepillado en un medio de transporte, puede ser solución salina o lactato Ringer. Si es para *Mycobacterium* coloque en 10 ml de caldo Middlebrook 7H9 suplementado con 1 a 2 % de albúmina bovina y 0.5% de Tween 80.
- Envíe al laboratorio
- En caso de los pacientes pediátricos proceda igual que los adultos

Tabla III-5

Ventajas del lavado bronco-alveolar con respecto al cepillado bronquial

VARIABLE	LAVADO BRONCO-ALVEOLAR	CEPILLADO
Volumen de la muestra	Suele ser grande lo que permite realizar varios procedimientos diagnósticos.	Muy escaso
Cultivos	Permite realizar investigaciones más extensas.	Cultivos limitados a bacterias, no útil para anaerobios.
Examen directo	Permite realizar diversas tinciones (Gram ^a , Ziehl Neelsen, etc.) que darán información dentro del mismo día de la toma.	Deben realizarse con un segundo cepillo pero esto es prácticamente imposible por el costo ^b .
Microorganismos	Es muy útil para buscar Hongos, micobacterias, virus	Es útil para el diagnóstico de neumonía bacteriana y debido al escaso material que se obtiene no está indicado para hongos, micobacterias y virus.
Costo	Menor	Mayor

^a La coloración de Gram de una lavado bronco-alveolar en el paciente no ventilado tiene una sensibilidad del 73% y una especificidad de 100%, mientras que en el paciente ventilado la sensibilidad es del 100% y la especificidad del 88%.

^b La sensibilidad de la coloración de Gram de la muestra obtenida por cepillado es muy baja: <50%

Tabla III-6

Sensibilidad y especificidad de las técnicas broncoscópicas

TÉCNICA BRONCOSCÓPICA	SENSIBILIDAD ^a	ESPECIFICIDAD ^b
Aspirado Traqueal	52 – 100% 80 - 85%	29 – 100% 25-35%
Broncoscopia con cepillo protegido	Neumonías: 70 - 97% NAV: 82-100%	95 – 100% 60 - 77%
Lavado Bronco-alveolar	91 %	78 – 100%

^a **Sensibilidad:** Capacidad de una prueba de laboratorio para distinguir correctamente en una población a las personas afectadas por la enfermedad es decir los verdaderos positivos (enfermos)

^b **Especificidad:** Es la capacidad de una prueba de laboratorio para distinguir a las personas que no tienen la enfermedad es decir los verdaderos negativos (sanos)



LÍQUIDO PLEURAL y EMPIEMA

El líquido pleural es producido por la pleura parietal y es absorbido en un proceso continuo por la pleura visceral, se localiza entre las dos capas de la pleura y facilita el deslizamiento de una contra la otra. Se encuentra normalmente entre 1 a 15 ml. La acumulación del líquido en la cavidad pleural se conoce como derrame y este puede ser trasudado o exudado. Si el derrame ha ocurrido por un incremento de la presión capilar por una disminución de la presión osmótica del plasma, como sucede en las patologías cardíacas, hepáticas, renales o metabólicas, estamos frente a un trasudado. Mientras que los exudados suelen ser causados por el aumento de la permeabilidad capilar o una disminución de la reabsorción linfática esto puede ser causado por infecciones pleurales, neoplasias y procesos inflamatorios no infecciosos como en las enfermedades reumáticas. En caso de una neumonía, alrededor del 50% de pacientes pueden desarrollar derrame como una complicación del cuadro neumónico y de estos, el 5% se convierten en exudados con características de empiema⁴¹. Ver tabla III-7.

Para obtener una muestra de líquido pleural a través de una toracocentesis debemos colocar al paciente descansando sobre un lado de su cuerpo en posición semi-recumbent con un brazo elevado debajo de la cabeza. Una alternativa es colocar al paciente sentado sobre la cama apoyándose sobre una almohada que se coloca sobre la mesita de noche.

El líquido pleural se acumula en el ángulo costo-frénico en donde los pulmones no llenan el espacio pleural.

Desinfecte la piel en el sitio de la punción. Ayúdese de rayos X y percusión para localizar el sitio. Anestesia el sitio de la punción con Lidocaína al 2%. Inserte la aguja apoyada sobre el borde superior de la costilla inferior, para evitar los vasos intercostales que se ubican a lo largo del borde inferior de las costillas. No permita que el paciente tosa.

Evite que el aire entre a la cavidad colocando una llave de tres vías en la jeringuilla.

Conforme avanza la aguja, aspire la jeringa para detectar la presencia de líquido.

Bajo supervisión médica e, idealmente apoyado con control ecográfico, es un método seguro y preciso para obtener líquido pleural sobre todo ante volúmenes pequeños o tabicados, abra la llave de tres vías y drene el líquido en un tubo estéril de tapa rosca o transportarlo en la misma jeringuilla. Si se requiere investigación de anaerobios se puede colocar otra parte en el vial de transporte para anaerobios. También es útil colocar 10 ml de líquido en un frasco de hemocultivo.

El empiema es una indicación de drenaje con tubo torácico. Tome la muestra en el momento de la colocación del tubo. Muestras posteriores no están indicadas debido a la colonización bacteriana. Luego de la fijación del tubo torácico fíjese si el paciente no tiene sangre en el esputo, lo cual sugiere daño del tejido pulmonar.

Si el líquido obtenido es un exudado con alto contenido proteico coloque en un tubo con heparina, un anticoagulante biológico, para evitar que se coagule y poder realizar el recuento diferencial de células. No utilice anticoagulantes como EDTA (tubo tapa lila) u oxalato de calcio (tubo tapa celeste) pues

son tóxicos para las bacterias. Rotule la muestra con la información del paciente. Especifique correctamente qué tipo de líquido es y qué estudio desea que se realice. Transporte la muestra rápidamente al laboratorio y no la refrigere.

Es fundamental, al igual que todas las efusiones obtenidas de las cavidades virtuales, obtener la mayor cantidad de volumen debido a la escasa cantidad de microorganismos que se pueden encontrar en es-

te tipo de líquidos.

El líquido pleural debe ser centrifugado, el sobrenadante sirve para el examen químico y el sedimento para las tinciones y cultivos. Vea tabla III-8. En la muestra obtenida se realiza:

Recuento celular total, recuento diferencial, análisis químico que incluye glucosa, proteínas, enzimas como amilasa, colesterol⁴², la actividad de lactato deshidrogenasa (LDH), pH, lactato, marcadores tumorales⁴³.

Tabla III-7
Características de un exudado, trasudado y empiema

CARACTERÍSTICA	EXUDADO	TRASUDADO	EMPIEMA
Examen macroscópico			
Color	Amarillo	Amarillo pálido	Amarillo verdoso
Formación de coágulos	Coagulan	No coagulan	No coagulan
Aspecto	Opaco o Turbio	Claro	Purulento
pH ^a	< 7.30	7.30	<7.3
Glucosa	< 60 mg%	> 60 mg%	< 40 mg/dl
DHL	> 200 U	<200 U	> 200 U
Proteínas	>3 g/dl	< 3 g/dl	> 3 g/dl
Colesterol	> 60 mg %	< 60 mg%	>60 mg%
Examen microscópico			
Hematíes	Pueden estar presentes ^b		
Leucocitos	> 1.000 x ul	1.000 x ul	>1.000 x ul
Fórmula diferencial	De utilidad moderada, es variable ^c		
Gram	Presencia o no de bacterias	Negativo para microorganismos	Presencia de bacterias

- a Para medir el pH la muestra de recolectarse en forma anaeróbica en una jeringa con heparina y transportarla en hielo con tapón en la aguja, exactamente igual que para una gasometría. La acidosis sistémica puede disminuir el pH del líquido pleural en forma transitoria y los líquidos muy purulentos con *Proteus* pueden ser alcalinos debido a la hidrólisis de la urea
- b Alrededor del 10 al 25% de los trasudados presentan sangre macroscópica y tienen recuentos de hematíes de más de 10.000/ul. Es imprescindible distinguir una punción traumática de un derrame hemorrágico. En el primer caso luego de centrifugación queda un líquido claro con un botón hemático y puede haber formación de coágulos mientras que en el segundo caso la sangre está distribuida de manera uniforme y no coagula.
- c Puede haber un predominio de neutrófilos en el 90% de los derrames debido a neuronía, sin embargo un 10% de trasudados también pueden tener un predominio de neutrófilos. De igual forma en un derrame tuberculoso puede haber un predominio de linfocitos en un 80-90%, sin embargo un 10% de derrames tuberculosos puede presentar predominio de neutrófilos. Y un 10% de los trasudados pueden presentar predominio linfocitario.

Los cultivos suelen ser estériles. El derrame pleural trasudado por lo general tiene una causa no infecciosa, por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva, absceso subfrénico, pancreatitis, infarto pulmonar, afección maligna del pulmón, colagenopatías, etc. Un líquido con características de exudado suele ser por condiciones inflamatorias, tales

como para-neumonía o empiema tuberculoso.

Los cultivos de especímenes tomados a través del tubo de drenaje no deben ser procesados.

Para los niños proceder en forma similar como el procedimiento de los adultos.

Tabla III-8

Estimaciones de sensibilidad de las pruebas microbiológicas realizadas en líquido pleural

MÉTODO MICROBIOLÓGICO	SENSIBILIDAD
Coloración de Gram	50-80%
Coloración Ziehl- Neelsen	10-25%
Cultivos para bacterias	80%
Cultivo para Mycobacterium	30%
Biopsia pleural sola	50-75%
Biopsia pleural+Ziehl Neelsen+Cultivo	75-90%

BIOPSIA PULMONAR

Las biopsias de pulmón están indicadas en pacientes en quienes no es posible obtener un esputo, como es el caso de individuos muy debilitados con neumonía, en población pediátrica y para descartar procesos malignos o de otra índole. No es necesaria en pacientes normales con neumonía. Es un procedimiento invasivo que conlleva a complicaciones como sangrado y neumotórax en un 5 a 39% de los pacientes⁴⁴. Este tipo de muestra puede ser tomada a través de⁴⁵:

1. Biopsia por aspiración pulmonar percutánea
2. Biopsia pulmonar transbronquial

3. Cirugía videotoroscópica (toracoscopia)
4. Cirugía convencional a cielo abierto

Antes del procedimiento es necesario comunicarse con los laboratorios, pues debe haber una cooperación entre el patólogo y microbiólogo para evitar una duplicación innecesaria de exámenes. Esto es realmente importante toda vez que con una mínima cantidad de tejido se deben realizar el estudio de múltiples agentes etiológicos.

Para la biopsia trans-bronquial el neumólogo debe realizar el procedimiento en el departamento de imagen bajo fluoroscopia. Lentamente avance con el fórceps de

la biopsia hasta el final del canal del broncoscopio. Inicie la fluoroscopia, posteriormente mueva el fórceps dentro de 2.5 cm de la pleura y avance empujando hacia el pulmón. Finalmente se cierra el fórceps para obtener la muestra. Generalmente se necesitan tres biopsias. Hay que retirar el fórceps del canal manteniéndolo cerrado. El tejido obtenido se coloca en un tubo con suero salino estéril (1 a 2 ml) y se lo envía al laboratorio para investigación de micobacterias y hongos. Otra porción del tejido se coloca en formol al 10% y se envía a Patología.

CULTIVOS

Los esputos serán sembrados en agar chocolate, agar sangre de cordero y agar McConkey, para ello se utilizará la porción de muestra que macroscópicamente sea más purulenta intentando utilizar el mismo inóculo en todas las ocasiones. Las cajas de agar sangre o chocolate se incubarán a 35°C en atmósfera con 5% de CO₂ durante 24 horas y la caja de McConkey en atmósfera normal por el mismo tiempo. Se identificarán las colonias con crecimiento igual o superior a 5 colonias en la tercera estría de siembra (esto se considerará como crecimiento abundante). Debe correlacionarse con la situación clínica del paciente y con la coloración Gram. Figura III-6.

Figura III-6
Agar McConkey. Obsérvese el crecimiento abundante de 2 enterobacterias. Crecimiento mayor a la tercera estrición.

HEMOCULTIVOS EN NEUMONÍA.

Los hemocultivos son positivos en el 1-16% de los pacientes hospitalizados con NAC. A pesar que su costo-efectividad es cuestionado, los hemocultivos deben ser tomados a todos los pacientes en quienes se sospeche neumonía y que están suficientemente enfermos para ser hospitalizados⁴⁶. De todas formas se consideran útiles en:

- 1) Para identificar la población con mayor tasa de mortalidad.
- 2) Para reducir el espectro antibiótico.
- 3) En pacientes con HIV, neoplasia, asilo de ancianos, grupos con mayor riesgo de bacteriemia.

Los hemocultivos también son útiles para determinar el microorganismo causal en pacientes severamente enfermos incapaces de producir esputo o si el cultivo de éste no es significativo⁴⁷.

Cuando se recupera de la sangre un microorganismo patógeno pulmonar que se sabe que causa NAC y no existe otra fuente, es probable que el microorganismo recuperado en el hemocultivo sea el mismo que causa NAC. Debido a que el *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* con frecuencia son bacteriémicos en muchos pacientes, son importantes



los hemocultivos para establecer el diagnóstico. El tiempo en que se llevan a cabo los hemocultivos y la terapéutica antimicrobiana previa determinan la positividad del hemocultivo, al igual que la propensión del microorganismo a causar bacteriemia. *S. pneumoniae* y *H. influenzae* suelen ser bacteriémicos, en tanto que rara vez hay bacteriemia con *M. catarrhalis*. Los hemocultivos escasamente serán positivos una vez que se haya instaurado la antibioticoterapia. Se recomienda recolectar dos botellas de hemocultivos en caso de neumonía.

Si se utiliza frascos de hemocultivos con resina como en el sistema BACTEC™ o el sistema de Organon Tecknika no es indispensable el suspender los antibióticos, debido a que a estas resinas se adhieren los antibióticos y permiten una recuperación mayor de las bacterias. Para la toma adecuada referirse al capítulo XVI de hemocultivos.

ESTUDIOS EN CASOS ESPECIALES

ESTUDIOS PARA LEGIONELLA

Se investigará la presencia de *Legionella* en los esputos pertenecientes al grupo 5 de Murray y Washington, procedentes de pacientes con neumonía grave, en las muestras que microscópicamente se justifique tal investigación (bacilos delgados muy pequeños, intra-leucocitarios o en macrófagos) y también se procesarán las muestras solicitadas específicamente y que no hayan sido rechazadas macroscópicamente⁴⁸. Cuando es una solicitud específica se

debe realizar inmunofluorescencia directa.

El cultivo para *Legionella* se realiza en el medio BCYE (Buffered Charcoal Yeast Extract agar) y en caldo de extracto de levadura, diluyendo la muestra a sembrar 1/10 en caldo triptosa soja y sembrando 5 gotas de la dilución en la caja de agar. Esta se incubará durante 15 días en ambiente húmedo con atmósfera normal. Únicamente la *L. gormanii* requiere de CO₂ al 5-10%, las otras legionelas pueden ser inhibidas por el CO₂. Las colonias sospechosas se subcultivarán en agar sangre y en medio de *Legionella* y aquellas que no crezcan en agar sangre se identificarán por métodos serológicos⁴⁹. **La identificación definitiva requiere de un laboratorio especializado de referencia. Los laboratorios clínicos pueden probablemente indicar la presencia de *Legionella sp.* en la muestra y la identificación definitiva debe ser realizada por el centro especializado.** La *Legionella* también puede ser investigada a través de Inmunofluorescencia Directa de Anticuerpos (DFA: Direct Fluorescent Antibody) en la cual se pueden colocar imprints de biopsia pulmonar, esputo, exudados o fluidos corporales en el portaobjetos para fluorescencia. La sensibilidad de esta prueba es de 50% a 75%, esto significa que potencialmente existe un 25% a 50% de muestras que van a ser falsamente negativas. Sin embargo es altamente específica, se ha presentado reacción cruzada únicamente con *Pseudomonas fluorescens* y *Bacteroides fragilis*, otros estudios han demostrado una especificidad del 95%. A pesar de

que la serología (búsqueda de anticuerpos) es diagnóstica en el 75% de los casos confirmados, la seroconversión tarda más allá de 9 semanas, por lo que el cultivo y la búsqueda de antígeno es de mayor utilidad, debido a que la serología en una sola muestra tiene valor desconocido. Existe otra prueba para investigar infecciones por *Legionella* y esta es la detección de antígeno en orina y otros líquidos⁵⁰.

ESTUDIOS PARA *CHLAMYDIA*

La *Chlamydia* es una bacteria intracelular estricta, es decir no puede vivir fuera de las células, por lo tanto no puede desarrollarse en un medio común de laboratorio como es el agar, pero si puede hacerlo como si se tratara de un virus en cultivos celulares. Por lo tanto el diagnóstico de *Chlamydia* es a través del cultivo en células MacCoy; en esta línea celular tardan 15 días en crecer. El cultivo se consideró hasta hace poco como "prueba de oro" para el diagnóstico, actualmente ha sido desplazada por la PCR, pero no todos los laboratorios están en capacidad de llevar a cabo cultivos en líneas celulares ni PCR. Una alternativa aceptable es la serología. Los resultados de la serología son válidos cuando la técnica es microinmunofluorescencia (MIF)⁵¹. El suero es obtenido en una fase aguda y otra en convalecencia, debe haber una elevación de la titulación IgG en 4 veces y el título de la IgM debe ser mayor a 1:16. El obtener un título elevado de IgG no es significativo. El inconveniente es que el resultado llega a manos del clínico una vez que el paciente ya ha comple-

tado el tratamiento. La serología sin embargo continúa siendo necesaria por dos razones: tanto para conocer el agente etiológico como desde el punto de vista epidemiológico. Actualmente se puede realizar titulaciones de IgM y es de utilidad un título inicial positivo. Debido a que hay variaciones diarias de 2 a 4 veces, se recomienda realizar en una sola corrida en el mismo plato ELISA con los dos sueros el de fase aguda y el de convalecencia. La MIF es útil en diferentes categorías de pacientes:

1. Niños asintomáticos mayores de 5 años de edad
2. Exacerbaciones de asma
3. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
4. Enfermedades cardiovasculares
5. SIDA
6. Infecciones del tracto respiratorio superior e inferior.

ESTUDIOS PARA *MYCOPLASMA*

El *Mycoplasma* es una bacteria que no tiene pared celular, por lo que no es posible que se coloree con Gram, además es muy pequeña (10x200nm) para poder ser observada con el microscopio de luz. Es una bacteria muy exigente, complicada para crecer en cultivo, se demora alrededor de 1 a 2 semanas la identificación, esto ha conducido a que la mayoría de los laboratorios no ofrezcan esta prueba⁵². Existen por lo tanto pruebas rápidas para el diagnóstico de *Mycoplasma*, éstas son:

1. Detección de los anticuerpos específicos
2. Detección de antígenos específicos
3. PCR o secuenciaciones del nucleóti-

do micoplasmal directamente de especímenes clínicos.

Para la detección de anticuerpos IgG e IgM existen pruebas como: fijación de complemento, ELISA, inmunofluorescencia indirecta y aglutinación de partículas. ELISA- IgM es una prueba con una especificidad del 99% y una sensibilidad del 98%. Lamentablemente no son positivos sino hasta 1 ó 2 semanas después de la infección⁵³. ELISA IgG tiene una especificidad de 99% pero la sensibilidad puede ser de apenas 46%. La limitación de estas pruebas es que no detectan IgM entre los 7 a 10 días de la infección. La prueba de aglutinación tiende a dar muchos falsos positivos. Se concluye por lo tanto que la serología para diagnóstico de neumonía por *Mycoplasma* es tardía y poco sensible. No se recomiendan por el momento como pruebas de rutina para diagnóstico de NAC u otra infección del tracto respiratorio.

En relación con la detección de antígeno de *Mycoplasma*, existe la prueba de detección de antígeno directamente del esputo y aspirados naso-faríngeos, a través de la prueba antígeno de captura enzima inmunoensayo indirecto, la sensibilidad y especificidad son relativamente altas

La detección de secuencias de nucleótidos específicos para *Mycoplasma pneumoniae* directamente del esputo o de secreciones naso-faríngeas o hisopados faringo amigdalinos, se puede realizar mediante una técnica comercial: Gen-Probe Rapid Diagnostic system (Gen Probe, San Diego, California)⁵⁴. Esta

prueba permite la identificación en dos horas. Hay estudios que demuestran una alta especificidad y sensibilidad⁵⁵, sin embargo otros demuestran lo contrario⁵⁶.

Existe otra prueba que es utilizada frecuentemente para el diagnóstico de infección por *Mycoplasma pneumoniae*, se trata de las crioaglutininas. A pesar de que en la mayoría de casos el diagnóstico se basa en la presencia de ellas, hay que recalcar que no son suficientemente sensibles ni específicas para ser usadas como una herramienta diagnóstica. Las crioaglutininas pueden estar presentes en otros tipos de neumonía "atípica", Mononucleosis Infecciosa, Infecciones por Citomegalovirus, otras infecciones virales y en linfoma⁵⁷.

La detección de anticuerpo IgM mediante ELISA o inmunofluorescencia puede ser de utilidad en el diagnóstico de *Mycoplasma* en niños si la muestra de sangre es recolectada dentro de los 7 a 10 días de la presentación de los síntomas, sin embargo la detección de anticuerpos IgM en adultos no es sensible. *Mycoplasma pneumoniae* ha sido detectado por PCR en un 95% de muestras respiratorias. En un estudio comparando PCR y serología se encontró un 88% de correlación entre las dos pruebas, sin embargo, el PCR fue negativo en el 5% de pacientes cuya serología fue positiva. El ADN de *Mycoplasma pneumoniae* podría también ser detectado en aspirados nasofaríngeos (9 de 20 fueron positivos 45%) y en hisopados faríngeos (11 de 22 fueron positivos 50%)⁵⁸.

ESTUDIOS PARA MYCOBACTERIUM

Envíe la muestra de acuerdo a las normas del Programa Nacional de Tuberculosis del país.

ESTUDIOS PARA HONGOS

Vea capítulo X de enfermedades micóticas.

**OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS:
DETECCIÓN DE ANTIÓGENOS
URINARIOS**

Existen pruebas diagnósticas que no requieren cultivo, como son la búsqueda de antígenos en orina. Los reactivos comerciales para esta búsqueda son dos, para *Legionella* y *S. pneumoniae*.

La detección de antígeno urinario para neumococo es útil para neumonía del adulto. La prueba es un método de inmunocromatografía de membrana (IMT del inglés: Immunochromatographic membrane test). Se basa en la detección de un polisacárido de la pared de la bacteria que es común a todos los serotipos. Las ventajas son que es simple y rápida (alrededor de 15 minutos)⁵⁹. La sensibilidad de una prueba como ésta puede variar de un 50% a 80%, a veces puede sobrepasar a la sensibilidad de la coloración Gram y cultivo⁶⁰. Sin embargo, tiene problemas con la especificidad debido a que pacientes con neumonía, causada por otros microorganismos, presentaron positiva a la prueba de antígeno urinario. Lamentablemente no es útil para neumonías en niños debido a la pérdida de especificidad, pues, al parecer, no logra diferenciar a los niños con neumonía de los colonizadores nasales con *S. pneumoniae*^{61,62}.

El antígeno para *Legionella* existe únicamente para la *L. pneumophila* grupo 1 y la sensibilidad puede ir del 70% al 90%, pero esto también está en relación con la prevalencia geográfica del serogrupo.

La PCR es un método disponible, sin embargo no está estandarizado, es difícil de interpretar y por el momento no se recomienda como un método de rutina para realizarlo en secreciones del tracto respiratorio para el diagnóstico de NAC o de neumonía nosocomial^{63,64}.

Las recomendaciones generales para el abordaje de una neumonía bacteriana en un paciente que llega a hospitalizarse, se encuentran en la tabla III-9.

NEUMONÍAS VIRALES

La neumonía viral puede ser diagnosticada mediante cultivos en líneas celulares y detección de antígeno viral directo de las secreciones respiratorias a través de técnicas como ELISA, fluorescencia o pruebas moleculares. Desde el punto de vista clínico la IF o ELISA para detectar virus en las muestras son más útiles pues permiten el diagnóstico en menos de 48 horas.

La reciente introducción de la terapia antiviral para virus Influenzae A y B ha permitido la proliferación de productos comerciales capaces de detectar estos virus. Vea tabla III-10. Desafortunadamente la utilidad de la terapia antiviral se limita a las primeras 48 horas de la presentación de los síntomas y los pacientes no acuden al médico dentro de este período por lo tanto cualquier intervención de tratamiento basado en la prueba podría ser muy tardía.

Tabla III-9

Recomendaciones generales para el abordaje de una neumonía bacteriana en un pacien-

ETIOLOGÍA	PRUEBAS DE LABORATORIO
Bacteriana: <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>M. catarrhalis</i> , Otros bacilos entéricos Gram negativos comunes.	Cultivo de esputo u otras muestras respiratorias Hemocultivo mínimo 2 (antes iniciar terapia anti-microbiana) Coloración de Gram del esputo Valoración del esputo mediante la técnica de Murray y Washington ¹⁴ Antígenos urinarios para neumococo.
<i>Mycoplasma</i>	El cultivo y la serología no son de mucha ayuda para diagnóstico en la fase aguda. El cultivo puede tardar 2 semanas y los anticuerpos son de aparición tardía. Estos pueden ser útiles por razones epidemiológicas y para confirmar el diagnóstico inicial, no para manejo. Búsqueda de antígeno mediante Gen-Probe puede ser de ayuda, sin embargo no todos los laboratorios están en capacidad de realizarla. Las crio-aglutininas no son específicas.
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	No se recomienda como prueba de rutina. Se puede solicitar microimmunofluorescencia (MIF). El suero es obtenido en una fase aguda y otra en convalecencia, debe haber una elevación de la titulación IgG en 4 veces y el título de la IgM debe ser mayor a 1:16. El obtener un título elevado de IgG no es significativo. El inconveniente es que el resultado llega a manos del clínico una vez que el paciente ya ha completado el tratamiento. La serología sin embargo continúa siendo necesaria por dos razones: tanto para conocer el agente etiológico como desde el punto de vista epidemiológico
<i>Mycobacterium</i>	BAAR y cultivo Auramina/rodamina es más útil para la observación directa de los bacilos en el frotis. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la sensibilidad es mejor en las muestras con BAAR positivos Pruebas de sensibilidad se requiere únicamente si se recupera <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y bacilos ácido resistentes de crecimiento rápido
<i>Legionella</i> ^a	El cultivo de las secreciones respiratorias sigue siendo "la prueba de oro" para identificar las especies de <i>Legionella spp</i> Antígeno urinario ^b para el serogrupo 1 (Existen 62 serogrupos) Puede ser útil en áreas geográficas con prevalencia de este serogrupo o cuando no es posible obtener esputo. La serología no es útil para diagnóstico de enfermedad aguda, pues los anticuerpos se pueden detectar recién a las 3 semanas y permanecen altos en individuos que viven en zonas endémicas.
Otras bacterias <i>Nocardia</i> , <i>Coxiella burnetii</i> (Fiebre Q), <i>Chlamydia psittaci</i> (Psittacosis), <i>Francisella tularensis</i> (Tularemia), <i>Yersinia pestis</i> (Peste).	Coordine con el laboratorio para la realización de las pruebas.

^a No requieren prueba de Murray y Washington pues muchos pacientes tienen esputos acuosos.

^b El antígeno utiliza la prueba Antígeno fluorescente directo (DFA del inglés Direct Fluorescent Antigen), se considera útil en muestras obtenidas de tracto respiratorio, otra que el esputo.

TABLA III-10

Pruebas rápidas para detectar virus de Influenzae A y B

PRUEBA	DETECTA	MUESTRA	TIEMPO	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD
Directigen Flu A	Únicamente la nucleoproteína de Influenza A	Lavado, aspirado, o hisopado nasofaríngeos. Hisopado faringo-amigdalino	15 min	91%	95%
Directigen Flu A + B	Las nucleoproteínas de Influenza A o Influenza B Por lo que puede distinguir entre A y B	Lavado, aspirado, o hisopado nasofaríngeos. Hisopado faringo-amigdalino. Lavado bronco-alveolar	15 min	Influenza A 86%, Influenza B 81%	Influenza A 91%, Influenza B 100%
Flu OIA	Nucleoproteína Influenza A o B no específica	Aspirado nasal Hisopado NF. Hisopado faringo- amigdalino. Espudo	15-20 min	62%-88%	52%-80%
QuickVue	Nucleoproteína Influenza A o B no específica	Hisopado Nasal y aspirado nasal	10 min	73%-81%	96%-99%
ZstatFlu	Neuraminidasa Influenza A o B, no específica	Hisopado faringo- amigdalino	20 min	62%	99%

BIBLIOGRAFÍA

1. Reimer LG, Carroll KC. Role of the microbiology laboratory in the diagnosis of lower tract infections. *Clin. Inf. Dis.* 1998;26:742-748
2. Bartlett JG, Breiman RF, Mandell L., File TM, Jr. Community-acquired pneumonia in adults guidelines for management. *Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis.* 1998;26:811-838
3. Mandell LA, Bartlett JG, Scott F,D, et al. Update of Practice Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompetent Adults. *Clin Infect Dis.* 2003;37:1405-1433
4. Graham NMH. The epidemiology of acute respiratory infections in children and adults. A global perspective. *Epidemiol Rev.* 1990;12:149-178
5. Ruiz M, Ewig S, Marcos M, et al. Etiology of community-acquired pneumonia: impact of age, comorbidity, and severity. *Am J Resp Crit Care Med.* 1999;160:397-405
6. Marrie TJ: Community-acquired pneumonia in the elderly. *Clin Infect Dis* 31:1066-1078, 2000
7. Muder R. Pneumonia in residents of long-term care facilities: epidemiology, etiology, management, and prevention. *Am J Med.* 1998;105:319-330
8. Joikinen C, Heiskanen L, Juvonen H. et al. Microbial etiology of community-acquired pneumonia in the adult population of 4 municipalities in Eastern Finland. *Clin Infect Dis.* 2001;32:1141-1154
9. Reimer LG: Community-acquired bacterial pneumonias. *Semin Respir Infect.* 2000;15:95-100.
10. Fagen JY, Chastre J, Hance AJ, et al. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: A cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay.
11. Wenzel RP. Hospital-acquired pneumonia: An overview of the current state of the art for prevention and control. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1989;8:56-60.

12. American Thoracic Society. Hospital acquired pneumonia in adults: Diagnosis, assesment of severity, initial antimicrobial therapy, and prevention strategies. *Am J Respir Care Med.* 1996;153:171-1725
13. Fagon JY, Chastre J, Wolff M, et al. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2000; 132:621-630.
14. Chastre J, Fajen JY. Invasive diagnostic testing should be routinely used to manage ventilated patients with suspected pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:570-574.
15. Niederman MS, Torres A, Summer W. Invasive diagnostic testing is not needed routinely to manage suspected ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:565-569
16. Rello J, Austin V, Castella J, et al. Incidence, etiology and outcome of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Chest.* 1991;100:439-444
17. Septimus EJ. Nosocomial bacterial pneumonia. *Semin Respir Infect.* 1989;4:245-252
18. Reimer LG, Carroll KC: Role of the microbiology laboratory in the diagnosis of lower respiratory tract infections. *Clin Infect Dis* 26:742-748, 1998.
19. Plouffe JF, McNally C, File TM Jr: Value of noninvasive studies in community-acquired pneumonia. *Infect Dis Clin North Am.* 1998;12:689-699.
20. Gleckman R, DeVita J, Hibert D, et al. Sputum Gram's stain assessment in community acquired bacteremic pneumonia. *J Clin Microbiol* 1988;26:846-849
21. Thorsteinsson SB, Musher DM, Fagan T. The diagnostic value of sputum culture in acute pneumonia. *JAMA.* 1975;233;894-895
22. Miller JM, Holmes HT: Specimen collection, transport, and storage. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, et al (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, D.C., American Society for Microbiology Press, 1999, pp 33-61.
23. Fishman JA, Roth RS, Zanzot E, et al: Use of induced sputum specimens for microbiological diagnosis of infections due to organisms other than *Pneumocystis carinii*. *J Clin Microbiol* 32:131-134, 1994
24. Murray PR, Washington JA: Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum. *Mayo Clin. Proc.* 50:339-344, 1975
25. Roson B, Carratala J, Verdager R, et al: Prospective study of the usefulness of sputum Gram's stain in the initial approach to community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *Clin Infect Dis* 31:869-874, 2000.
26. Valenstein PN: Semiquantitation of bacteria in sputum Gram's stains. *J Clin Microbiol* 26:1791-1794, 1988.
27. Rein MF Gwaltney JM Jr, O'Brien WM, et al: Accuracy of Gram's stain in identifying pneumococci in sputum. *JAMA* 239:2671-2673, 1978
28. Merz WG, Roberts GD. Detection and recovery of fungi in clinical specimen. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, et al. eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1995;709-722
29. Donowitz GR, Mandell GL. Acute Pneumonia. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, ed 5. New York, Churchill Livingstone, 2000, pp 717-743
30. El-Ebiary M, Torres A, Gonzalez J, et al. Quantitative cultures of endotracheal aspirates for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1552-1557
31. Jourdain B, Novara A, et al. Role of Quantitative Cultures of Endotracheal Aspirates in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152: 241-246
32. Wimberly N, Faling LJ, Bartlett JG. A fiberoptic bronchoscopy technique to obtain uncontaminated lower airway secretions for bacterial culture. *Am Rev Respir Dis.* 1979;119:337-342

33. Meden G, Hall GS, Ahmad M. Retrieval of microbial specimens through the fiberoptic bronchoscopy. *Cleve Clin Q.* 1985;52:495-502.
34. Broaddus C, Dake MD, Stulburg MS, et al. Bronchoalveolar lavage and transbronchial biopsy for the diagnosis of pulmonary infections in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am Intern Med.* 1986;102:742-752
35. Torres A, El-Ebiary M. Invasive diagnostic techniques for pneumonia: Protected specimens brush, bronchoalveolar lavage and lung biopsy methods. *Infect Dis Clin North Am.* 1998;12:701-722
36. Jourdain B, Joly-Guillou ML, Dombret MC, et al. Usefulness of quantitative cultures of BAL fluid for diagnosing nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest.* 1997;111:411-418
37. Luna CM, Vujacich P, Niederman MS, et al. Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997; 111:676-685
38. Pollock HM, Hawkins EL, Bonner JR, et al. Diagnosis of bacterial pulmonary infections with quantitative protected catheter cultures obtained during bronchoscopy. *J. Clin Microbiol.* 1983;17:225-229
39. Chastre J, Viau F, Brun P, et al. Prospective evaluation of the protected specimen brush for the diagnosis of pulmonary infections in ventilated patients. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130:924-929.
40. Wilberly NW, Bass JB, Boyd BW, et al. Use of bronchoscopic protected catheter brush for the diagnosis of pulmonary infections. *Chest.* 1982;81:556-582
41. Sahn SA. Pleural fluid analysis: Narrowing the differential diagnosis. *Semin Resp Med* 9:22-24, 1987
42. Hamm H, Brohan U, Bohmer R, et al. Colesterol in pleural effusions. A diagnosis. *Aid.* *Chest* 92:296-298, 1987
43. Jay SJ. Pleural effusions, 2. Definitive evaluation of the exudate. *Postgrade Med* 80:181-184, 1986
44. Manresa F, Dorca J. Needle aspiration technique in the diagnosis of pneumonia. *Thorax.* 1991;46:601-603
45. Busk MF, Rosenow EC III, Wilson WR. Invasive procedures in the diagnosis of pneumonia. *Semin Respir Infect.* 1988;3:113-122
46. Chalasani NP, Valdecanas MAL, Gopal AK, et al: Clinical utility of blood cultures in adult patients with community-acquired pneumonia without defined risks. *Chest* 108:932-936,1995.
47. Berk SL: Justifying use of blood cultures when diagnosing community-acquired pneumonia. *Chest* 108:891-892, 1995 7. Boermer DF, Zwadick P: The value of the sputum Gram's stain in community-acquired pneumonia. *JAMA* 247:642-645, 1982
48. Pasculle W: Update on legionella. *Clinical Microbiology Newsletter.*2000; 22:97-101.
49. Vickers RM, Brown A, Garrity GM: Dye containing buffered charcoal-yeast extract medium for differentiation of members of the family *Legionellaceae*. *J Clin Microbiol,* 1981;13:380-382
50. Murdoch DR. Diagnosis of Legionella infection. *Clin Infect Dis.* 2003;36:64-69
51. Jackson LA, Grayston JT: *Chlamydia pneumoniae*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and practice of Infectious Diseases, ed 5. Philadelphia. Churchill Livingstone. 2000, pp 2007-2014
52. Hindiyeh M, Carroll KC: Laboratory diagnosis of atypical pneumonia. *Semin Respir Infect* 15:101-113, 2000
53. Baum SG. *Mycoplasma* Infection: Immunologic and molecular biologic diagnostic techniques. In: Rose NR, de Macario EC, Folds ED, et al. Eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology: Infections caused by bacteria, mycoplasmas, chlamydiae and rickettsiae.* Washington D.C: American Society for Microbiology:1997-547-557
54. Dular R, Kajioka R, Kusatiya S. Comparison of Gen Probe commercial kit and culture technique for the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae*



- niae* infection. J. Clin. Microbiol. 1988;26:1068
55. Kleemola MSR, Karjalainen JE, Raty RKH. Rapid diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection: Clinical evaluation of a commercial probe test. J Infect Dis. 1990;162:70
 56. Harris R, Marmion BP, Varkanis G, et al. Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection: 2. Comparison of methods for the direct detection of specific antigen or nucleic acid sequences in respiratory exudates. Epidemiol Infect. 1988;101:685
 57. Waites KB, Bebear CM, Robertson JA, et al: Cumitech 34, laboratory diagnosis of mycoplasmal infections. Washington D.C., American Society for Microbiology, 2000, pp 1–30.
 58. Marmion BP, Williamson J, Worswick DA, Kok TW, Harris RJ. Experience with newer techniques for the laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* Infection: Adelaide, 1978-1992. Clin Infect Dis. 1993; 17 (suppl 1): S90-S99.
 59. Gutiérrez F, Rodríguez JC, Ayelo A. et al. Evaluation of the immunochromatographic Binax NOW assay for detection of *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen in a prospective study of community-acquired pneumonia in Spain. Clin Infec Dis. 2003;306:286-292
 60. Yu VL, Kellog JA, Plouffe JF, et al Evaluation of the Binax urinary, Gram stain and sputum culture for *Streptococcus pneumoniae* in patients with community-acquired pneumoniae [abstract 262]. In: Program and abstract of the 38th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America (New Orleans). Infectious Disease Society of America. 2000
 61. Fadan H, Heimerl M, Varna C, Goodman G, et al. Urinary excretion of pneumococcal cell wall polysaccharide in children. Pediatr Infect Dis J. 2002;21:791-793
 62. Dowell SF, Garman RL, Lui G, et al. Evaluation of Binax NOW, an assay for the detection of pneumococcal antigen in urine samples, performed among pediatric patients. Clin Infect Dis. 2001;32:824-825
 63. Tjhie JHML, Van Kuppeveld FJH, Roosendaal R, et al. Direct PCR enables detection of *Mycoplasma pneumoniae* in patients with respiratory tract infections. J Clin Microbiol 32:11-16, 1994
 64. Schulger NW, and Rom WN: The polymerase chain reaction in the diagnosis and evaluation of pulmonary infections. Am J Respir Crit Care Med 152: 11-16,





IV. INFECCIONES DEL TRACTO GASTROINTESTINAL



Las infecciones gastrointestinales pueden ser causadas por bacterias, virus, parásitos y hongos. Dentro del diagnóstico de una infección entérica es importante una historia clínica adecuada, junto con un examen físico apropiado y un examen de las heces; con ellas se puede realizar un coproparasitario o un coprocultivo. Dependiendo del cuadro clínico que el paciente presente, para el diagnóstico de un proceso infeccioso en el tracto gastro-intestinal se pueden procesar, además de las heces, otro tipo de muestras, como las siguientes:

1. Contenido gástrico
2. Biopsia del antro gástrico
3. Contenido duodenal
4. Bilis, colostomía e ileostomía
5. Biopsias por sigmoidoscopia
6. Cinta adhesiva en la región anal
7. Hisopados rectales y anales

Todas las muestras fecales, en particular las diarreicas frescas, pueden contener viables bacterias, virus, hongos o parásitos, por lo que deben ser manipuladas con el cuidado requerido para material infeccioso. Las medidas de seguridad deben incluir área de trabajo adecuado, uso de guantes, gafas protectoras, contenedores donde descartar apropiadamente el material, contenedores apropiados para centrifugación, etc. La heces son una fuente potencial de infección para el personal del laboratorio por lo que se deben aplicar estrictamente las normas de bioseguridad, principalmente no comer, beber, fumar o maquillarse en el área de trabajo.

RECOLECCION Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA

Las muestras de heces son recogidas habitualmente en la casa del paciente y si está

hospitalizado en el servicio en el que esté internado. La muestra puede ser recolectada por evacuación espontánea directamente en un recipiente de recolección de heces o en una bacinilla de cama, papel plástico o un dispositivo de recolección. Nunca tome la muestra del agua del inodoro y no permita que se contamine con orina¹

Es de particular valor el examen físico de una muestra de heces, esta valoración de las heces permite la:

1. Determinación objetiva de las quejas subjetivas del paciente.
2. Observación de la calidad de las heces; acuosa, mucosa, sanguinolenta, espumosa, grasosa, etc., que ayuda al diagnóstico.

No se deben procesar las muestras si éstas:

1. No vienen en el recipiente apropiado (limpio, boca ancha, tapa rosca)
2. Están mezcladas con orina
3. Vienen en pañales²
4. Han sido recolectadas de los inodoros o retretes
5. Están contaminadas con agua
6. Contengan purgantes de aceite, bario o sustancias radiopacas, o con carbón o supositorios de glicerina, etc,
7. No están en medio de transporte (Cary Blair), en el caso de solicitarse coprocultivo.

Todas las muestras deben ir acompañadas de la siguiente información: Nombre del paciente, nombre del médico, fecha y hora de la recolección de la muestra, diagnóstico presuntivo, historia de viajes relevantes.

Tabla IV-1

Tiempo que puede transcurrir desde la evacuación hasta el procesamiento de la muestra para estudio parasitológico.

CONSISTENCIA DE LAS HECES	TIEMPO QUE PUEDE TRANSCURRIR HASTA EL EXAMEN	ALMACENAMIENTO	COMENTARIO
Formadas	12 horas	Pueden ser refrigeradas	En este tiempo no se pierden las características diagnósticas de los parásitos que puedan haber en ellas.
Líquidas	30 minutos siguientes a la evacuación	No refrigere	Si no es posible observarlas a la media hora deben fijarse con MIF o PVA u otro fijador.

MIF: Merthiolate-yodo-formol de las siglas en inglés Merthiolate iodine formaldehyde

PVA: Alcohol polivinilo de las siglas en inglés polyvinyl alcohol. Puede ser obtenido comercialmente de Delkote Inc., Penns Grove, New Jersey, 08069

Muestras de heces para estudio parasitológico.

Las heces para estudio parasitológico pueden ser diarreicas, blandas o formadas y son recogidas a través de una evacuación normal, en un recipiente limpio (un plato hondo plástico o de espumaflex descartable es apropiado), con una cucharilla descartable coloque aproximadamente una cucharada de heces si son líquidas, y entre 10 a 20 gramos (el tamaño de una nuez) si son formadas directamente en el recipiente, boca ancha, tapa rosca, sin contaminación con orina. Si la muestra va a tardar en ser procesada, por diversas razones, ésta debe ser mezclada con una solución preservativa, después de la evacuación³. Vea tabla IV-1. Existen varios fijadores en el mercado que evitan destrucción de los parásitos⁴. Los recipientes y el fijador deben ser entregados al paciente para su recolección con las instrucciones respectivas. El paciente debe colocar en el frasco con el fijador

en un radio de 3 partes del fijador y una de heces. Los fijadores frecuentemente utilizados para estudios parasitológicos, están descritos en la tabla IV-2.

Si la muestra puede llegar al laboratorio dentro de los 30 minutos después de la evacuación, el paciente no deberá colocar ninguna solución fijadora en las heces, si va a tardar más, es indispensable que el paciente coloque la muestra en el envase con solución fijadora como PVA, MIF, u otra.

La muestra debe estar libre de aceite, magnesio, sales de aluminio, bario o bismuto. Si se ha utilizado estos productos deben pasar 5 días antes de enviar una muestra para estudio⁵. Se recomienda un mínimo de tres muestras que pueden ser recogidas a días seguidos o cada dos o tres días. Una única muestra no excluye la presencia de bacterias ni parásitos⁶. Si se

realiza un estudio seriado, se recolectarán tres muestras en un lapso no mayor a 10 días. No es apropiado procesar varias muestras de heces en el mismo día para estudio de parásitos⁷. También está indicada la realización de muestra seriadas (tres muestras) para control de tratamiento anti-protozoarios 3 a 4 semanas después de haberlo completado y en el caso de haber sido tratado para *Taenia*, de 5 a 6 semanas de haber finalizado el tratamiento. Al

enviar la muestra no olvide rotular en la muestra el número: "1 de 3", o "2 de 3" y "3 de 3". Es importante la realización del estudio macroscópico de las heces para observar la presencia de moco, sangre y cantidades considerables de tejidos desprendidos. El examen microscópico debe siempre ir precedido del estudio macroscópico⁸. Observe parásitos adultos de *Ascaris*, *Enterobius* y proglótides de *Taenia* y *Dipylidium*.

TABLA IV-2

Formas de preservar las heces para estudio parasitológico.

PRESERVATIVO	MUESTRA/VOLUMEN DE PRESERVATIVO	VENTAJA	DESVENTAJA	PRESERVA
Formol al 5-10% (es un fijador todo propósito)	1 volumen de la muestra/3 de formol (al momento de la recolección)	Puede ser usado para método de concentración y pueden ser utilizadas en kits de inmunoensayo (antígenos con anticuerpos monoclonales)	No sirve para tinciones permanentes	Quistes, huevos, larvas No preserva bien trofozoitos
Fijador PVA Alcohol de polivinilo (es una resina plástica)	1 volumen de la muestra/3 de PVA (al momento de la recolección)	Puede ser usada para preparar coloraciones permanentes (tricrómica) Puede durar meses o años a la temperatura ambiente.	<i>Isospora belli</i> no es visible. Contiene mercurio. Mayor dificultad en la preparación.	Preserva excelentemente trofozoitos y quistes, No preserva bien huevos ni larvas.
Solución MIF Merfialate-yodo-formal	1 volumen de heces/3 de MIF (al momento de la recolección)	Preparados directos. Fija y tñe simultáneamente. Fácil de preparar No contiene mercurio. Útil para estudios de campo.	No sirve para tinciones permanentes.	Trofozoitos, quistes, huevos
Fijador de Schaudinn		Coloraciones tricrómica o hierro-hematoxilina	Contiene mercurio. No útil con técnicas de concentración. Pobre adherencia con heces líquidas o mucoides	Excelente preservación de trofozoitos y quistes
Fijador PAF Fenol-alcohol-formol		Preparados directos	No sirve para tinciones permanentes	Trofozoitos, quistes, huevos
Fijador SAF Sal ¹ -ácido acético-formal		Preparados directos. Método de concentración. Pueden ser utilizadas en kits de inmunoensayo.	No es buen sustrato para tinción tricrómica, pero sí para hierro-hematoxilina. Requiere fijación con albúmina No contiene mercurio	Trofozoitos, quistes, huevos, larvas. Coccidias y microsporidias

 Sal¹: Acetato de sodio

Se recomienda que un examen de heces puede ser estudiado previa la ingesta de un laxante como sulfato de magnesio o Dulcolax™. Está contraindicado laxantes a base de aceite. El objetivo de utilizar un laxante es estimular la acción de lavado en el tracto gastrointestinal, pues el aumento de flujo permite que se recuperen en mayor proporción los parásitos. Naturalmente si el paciente está con diarrea, estos laxantes están contraindicados.

El examen coproparasitario consiste en la observación de un montaje con suero fisiológico, y lugol. Si se requiere la investigación de *Cryptosporidium*°, *Cyclospora*, el grupo de *Microsporidium* (*Enterocytozoon*, *Encephalitozoon*, *Pleistophora* y *Nosema*) e *Isospora belli*, debe ser solicitada específicamente debido a que la identificación requiere tinciones o una metodología especiales. Vea tabla IV-3.

Muestras de heces para coprocultivo.

Las heces son recogidas a través de una evacuación normal en un recipiente limpio (un plato hondo plástico o de espumaflex descartable es apropiado), con una cucharilla descartable coloque aproximadamente una cucharada de heces, 10 a 20 ml en el recipiente, boca ancha, tapa rosca, sin contaminaciones con orina. Si se va a demorar en llegar al laboratorio para el cultivo de las heces, éstas deben ser introducidas en el medio de transporte Cary Blair y ser enviadas a la brevedad posible al laboratorio de microbiología¹⁰. Este medio que ha demostrado ser el óptimo para preservar la viabilidad de los patógenos intestinales puede adquirirse co-

mercialmente o prepararse en el laboratorio en recipientes con boca ancha tapa rosca (los de orina son aceptables) coloque una pulgada de medio Cary Blair (Difco) y almacene en refrigeración hasta su uso. Un método menos costoso es colocar las heces en una solución preparada con fosfato de sodio o de potasio 0.033 molar (buffer fosfato) y glicerol a partes iguales (pH 7.0). La *Shigella* es muy lábil, por lo que es mejor hacer una siembra directa en el agar SS, inmediatamente después de la evacuación, si esto no es posible se debe enviar las heces en cualquiera de los medios de transporte descritos. Algunos autores consideran que el buffer fosfato es mejor que el Cary Blair, para la viabilidad de la *Shigella*.

Las heces destinadas a cultivarse para la búsqueda de bacterias enteropatógenas deben ser diarreicas, caso contrario no se justifica la realización de un coprocultivo, (una excepción, ya anotada, es la búsqueda de *Salmonella typhi*). La diarrea es un síntoma común que puede variar de intensidad de una molestia aguda autolimitada a una enfermedad grave que pone en peligro la vida del paciente. La diarrea puede ser aguda o crónica, la primera es de inicio agudo y persiste menos de dos semanas, mientras que la crónica es mayor a este período. La diarrea aguda es causada comúnmente por agentes infecciosos, en su mayoría por toxinas bacterianas (ya sea preformadas ingeridas, en alimentos o producidas en el intestino). La información epidemiológica puede proporcionar indicios sobre el agente etiológico, así, el consumo de mariscos en el caso de *Vibrio parahemolyticus*, tratamiento antimicrobiano en el caso de *Clostridium difficile*.

TABLA IV-3

Pruebas de laboratorio que se pueden solicitar para estudio de enfermedad diarreica aguda

MICROORGANISMO	MUESTRA PARA ESTUDIO	PRUEBAS DE LABORATORIO
NO INFLAMATORIA: no hay leucocitos, el enteropatógeno se localiza en intestino delgado proximal produciendo diarrea acuosa.		
BACTERIAS		
<i>Vibrio cholerae</i> (10 ¹¹)*	Estudio directo de las heces: Campo oscuro o contraste de fase (máximo dos horas después de la evacuación) Heces para cultivo	Coprocultivo Agar TCBS (tiosulfato, citrato, sales biliares-sacarosa) Colonias de color amarillo. Agar Telurito-Taurocolato
<i>Escherichia coli</i> LT ST EPEC	Heces	Antiseros comercializados. (Difco). Coprocultivo
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Salmonella</i> (agentes de la Intoxicación alimentaria)		Debido a que la diarrea es producida por una enterotoxina preformada que el individuo ingiere. NO solicite coprocultivo
PARÁSITOS		
<i>Giardia lamblia</i> (10 ² quistes)*	Heces Aspirado duodenal Biopsia de duodeno	Coproparasitario (fresco y lugol) Tinciones: Tricrómica (93% sensibilidad) Negro clorazol E (99,2%) Inmunofluorescencia directa (100%) ELISA Prueba de la cuerda Entero-test
<i>Cryptosporidium</i>	Heces Sangre	Se recomienda una técnica de concentración. Las tinciones recomendadas son Ziehl Neelsen modificada. Ooquistes de unas 2,5 a 5 um de diámetro. (92% de sensibilidad) Anticuerpos monoclonales fluorescentes específicos. (inmunofluorescencia directa 100%) Fines epidemiológicos estudios serológicos con ELISA más sensible que las tinciones
<i>Cyclospora</i>	Heces	Ooquistes de doble pared y de unos 8-10 um de diámetro. Se recomienda una técnica de concentración. Las tinciones recomendadas son tricrómica, Ziehl Neelsen, Giemsa, Safranina con azul de metileno. Calcoflúor y auramina fenol
<i>Microsporidium</i>	Heces Fluidos orgánicos Aspirado duodenal Sedimento urinario Escarificación corneal	Calcoflúor Tinción tricrómica de Weber modificada Inmunofluorescencia indirecta PCR Uvitex 2B (tinción fluorescente)
<i>Blastocystis hominis</i>	Heces	Coproparasitario (Fresco y lugol)
<i>Isospora belli</i>	Heces Aspirado duodenal Prueba de la cuerda Biopsia duodenal	Montaje en fresco Auramina-rodamina Ziehl Neelsen Safranina-azul de metileno Autofluorescencia (Microscopio con filtro UV de 330 a 380 nm)

MICROORGANISMO	MUESTRA PARA ESTUDIO	PRUEBAS DE LABORATORIO
VIRUS		
Agente Norwalk (calicivirus)	Heces	Microscopía electrónica ELISA (antígeno) PCR
Rotavirus	Heces	Microscopía electrónica ELISA (antígeno) Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE-SS) Aglutinación de látex Inmunocromatografía PCR
Adenovirus tipo 40 y 41	Heces	Látex, ELISA Inmunocromatografía
Astrovirus, coronavirus	Heces	Microscopía electrónica

INFLAMATORIA: leucocitos fecales presentes, el enteropatógeno se localiza en colon produciendo disentería

BACTERIAS		
<i>Shigella</i> spp. (10^{12})*	Heces	Coprocultivo: Aislamiento en Agar SS, HEA o XLD (xilosa, lisina y deoxicolato) o MacConkey con sales biliares. Todos los aislamientos deben ser serotipificados por lo que deben ser enviados al centro de referencia.
<i>Salmonella enteritidis</i> (10^8)*	Heces Hemocultivo	Coprocultivo: Aislamiento en Agar SS, HEA. Todos los aislamientos deben ser serotipificados por lo que deben ser enviados al centro de referencia (fagos y perfil de plásmidos).
<i>Campylobacter jejuni</i>	Heces Sangre (suero)	Estudio directo de las heces: 1) Campo oscuro o contraste de fase (máximo dos horas después de la evacuación) 2) Coloración de Gram (sensibilidad 50 a 75%) Coprocultivo Requiere de medios de cultivo y condiciones de incubación especiales (temperatura más alta, 42°C y menor concentración de oxígeno, microaerofilia) Serología y PCR: propósitos de investigación
<i>Escherichia coli</i> EPEC	Heces	Na hay pruebas comercializadas.
<i>Vibrio parahemolyticus</i>	Heces	Coprocultivo: Agar TCBS (tiosulfato, citrato, sales biliares-sacarosa) Colonias de color verde azulado con el centro verde más oscuro
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Heces	Coprocultivo: Aislamiento en agar CIN (Cefsulodina-Irgasán-Novobiocina) Suspensión de las heces en caldo peptona o una solución de tamponada de fosfato durante 3 a 7 días a 4°C
<i>Clostridium difficile</i>	Heces	Investigación de toxina A o B ELISA Inmunocromatografía



MICROORGANISMO	MUESTRA PARA ESTUDIO	PRUEBAS DE LABORATORIO
PARÁSITOS		
<i>Entamoeba histolytica</i> (10 ² quistes)*	Heces (30 minutos después de la evacuación) Biopsia rectal Rectosigmoidoscopia Sangre	Coproparasitario (fresco y lugol) 60% sensibilidad Hiero hematoxilina o tricrómica ELISA (95% sensibilidad) Análisis de zimodemas Serología (SERAMEBA)
<i>Balantidium coli</i>	Heces	Observación de trofozoitos con bajo aumento (10X). No se recomiendan las tinciones debido a que se tiñe intensamente y no se puede observar sus estructuras internas. Los quistes se observan en heces formadas

* Dosis infecciosa

Es una consideración común que la presencia de leucocitos fecales, indica que estamos frente a una diarrea inflamatoria o disintérica, causada por las especies más comunes como **Shigella**, **Salmonella** y **Campylobacter**, sin embargo hay que considerar que la sensibilidad de esta prueba es muy variable. Así para **Shigella** la sensibilidad está en el 73%, para **Campylobacter** en el 54%, para **Salmonella** en el 52%, para EHEC en el 54% y puede ser muy baja con el 42% para **C. difficile**, por lo que esta prueba rápida y barata tiene sus limitaciones¹⁷.

Lo primero a investigar en unas heces diarreicas es la presencia de leucocitos fecales¹². Para ello coloque una pequeña porción de moco o unas gotas de heces líquidas en un portaobjetos. Coloree con Wright, o May Grunwald-Giemsa o azul de metileno. Observar con menor aumento y realizar un recuento aproximado calculando el número de leucocitos por campo. Luego pasar a mayor aumento y hacer la fórmula dife-

rencial que se puedan identificar claramente como mononucleares y polimorfonucleares y establecer el porcentaje. Por lo tanto en el reporte se registrará el número de leucocitos por campo y o el número de polimorfonucleares por campo. La ausencia de leucocitos determinará que se trata de una diarrea aguda secretora, en este caso los agentes etiológicos son los nombrados en la tabla IV-3. Los leucocitos fecales indican que es una diarrea aguda inflamatoria o disintérica. En el primer caso, diarrea aguda secretora, no es necesaria la investigación de laboratorio (coprocultivo) para determinar el agente etiológico pues en la mayor parte aguda es producida por toxina preformada, la bacteria no está presente por lo que el coprocultivo es inapropiado, pero sí se buscará en este tipo de diarrea secretora: parásitos y virus. Este cuadro diarreico suele constituir el 90% de las consultas y la enfermedad suele ser leve, autolimitada, y responde por lo general en un lapso de cinco días o menos a la terapéutica simple con rehidratación. No requiere terapia antimicrobiana. (excepción *Vibrio cholerae*).

En el segundo caso, la diarrea presenta moco y sangre, se debe proceder a la realización de coprocultivo e investigación de parásitos de acuerdo a la tabla IV-3. Por tanto el objetivo de la evaluación inicial de un cuadro diarreico infeccioso consiste en distinguir a dos grupos de infecciones: inflamatoria y no inflamatoria¹³. Entonces debemos hacernos la siguiente pregunta: ¿Es una diarrea secretora? Esta es por lo general una enfermedad leve y de ordinario de resolución espontánea (excepto el cólera, el rotavirus en lactantes y agentes patógenos en inmunocomprometidos), ¿O es una diarrea inflamatoria o exudativa o disentérica? Una enfermedad por lo general más grave, que involucra al estado general del paciente y requiere probablemente terapia antimicrobiana. Esta clasificación tiene sus limitaciones, pues una diarrea secretora puede presentarse de esta forma en la fase inicial y posteriormente transformarse en exudativa, o puede ser que una diarrea inflamatoria se presente sin heces mucosas sanguinolentas, sin dolor abdominal y sin fiebre. O como lo demuestra el estudio de Cooper¹⁴ apenas el 24% de las muestras diarreicas con toxina positiva para *C. difficile*, presentaron leucocitos.

En caso de no ser posible obtener una muestra de heces por evacuación espontánea, se puede realizar un hisopado rectal, principalmente para *Shigella*, *Campylobacter* y cultivos virales. Está recomendado para lactantes, pero no para adultos. Asegúrese siempre que el hisopo contenga heces. No se debe permitir que el hisopo se seque por lo que debe ser colocado en el medio de transporte Cary Blair, inmediatamente. Re-

cuerde siempre que los hisopados NO son útiles para detección de parásitos, toxinas o para detección de antígenos virales¹⁵.

Rotule la muestra con la información del paciente. Indique que bacteria está sospechando pues los estudios para EHEC; *Yersinia* y *Campylobacter* requieren una solicitud específica, pues no se siembran de rutina, ya que son más costosos. No se cultivan heces para anaerobios y no se realiza de rutina prueba de sensibilidad para *Campylobacter*. Rotule la fecha y hora de la recolección. Registre algún dato de interés como zona geográfica de residencia del paciente, viajes, etc.

En el caso de disentería, la presencia de moco, sangre y leucocitos fecales es una indicación de búsqueda de parásitos como *Entamoeba histolytica* y *Balantidium coli*, y además hay que realizar un cultivo de las heces para la búsqueda de las bacterias enteropatógenas. La tasa de coprocultivos positivos en pacientes con disentería es de 60-75%. La disentería requiere de una evaluación médica rápida al igual que una respuesta pronta por parte del laboratorio. Casos en los que el laboratorio debe informar lo más pronto posible son:

1. En los pacientes con signos de diarrea inflamatoria manifestada por cualquiera de los trastornos siguientes: fiebre alta mayor de 38,5°C. diarrea sanguinolenta o dolor abdominal.
2. Pacientes con seis o más evacuaciones diarreicas en 24 horas.
3. Los pacientes con diarrea acuosa profusa y deshidratación (sed excesiva,

- resequedad de la boca, disminución en la micción, debilidad, letargia).
4. Los ancianos de 70 a más años de edad.
 5. Pacientes inmunocomprometidos (Sida, Postransplantados) y
 6. Niños con letargo, hipotensión postural y taquicardia, fontanelas deprimidas y disminución de la turgencia cutánea, enoftalmía, sequedad de las mucosas, es decir signos de deshidratación grave.

Si un agente etiológico no es aislado en el primer cultivo se sugiere que se realicen dos cultivos adicionales en los siguientes días, debido a que los microorganismos pueden ser eliminados intermitentemente, y el repetir puede incrementar la oportunidad de aislamiento^{16,17,18}. En conclusión no más de dos muestras para cultivo por paciente y no más de tres muestras para coproparasitario por paciente. El estudio de Siegel¹⁹ y colaboradores sugiere que más del 50% de la carga de trabajo en el laboratorio de microbiología corresponden a coprocultivos de pacientes hospitalizados más de tres días. En estos pacientes no se aisló patógeno alguno durante un período de tres años. Por lo que concluye que no son costo-efectivos los coprocultivos en este tipo de pacientes. Siegel denomina la "regla de los 3 días" que sugiere no procesar para cultivo las heces de los pacientes hospitalizados más de tres días.

TRANSPORTE

Si la muestra no va a ser transportada inmediatamente para cultivo, debe ser refrigerada. Las heces para virus deben

ser refrigeradas si no van a ser cultivadas dentro de 2 horas. Un hisopado rectal transportado en el medio Stuart es adecuado para cultivos virales. Para detección de toxina de *Clostridium*, si no se va a procesar inmediatamente las heces pueden ser refrigeradas (son útiles hasta 7 días).

PROCESAMIENTO

Heces sólidas, formadas o duras. No se procesará esta muestra, salvo que el pedido indique la investigación de portador de *Salmonella typhi*. Heces líquidas o blandas. Se sembrarán en los siguientes medios:

- Agar SS
- Agar Selenito
- Agar Campylobacter

En casos especiales (solicitud del médico por sospecha clínica, por la epidemiología, etc.) se añadirá a los medios anteriores:

- Agar Sorbitol McConkey (si solicitan investigar EHEC)
- Agar CIN (si la solicitan investigar *Yersinia*)
- Agar TCBS y Agar sangre (si solicitan investigar *Vibrio cholerae*)
- Agar sangre-ampicilina (*Aeromonas*)

No existen protocolos uniformes para la detección de enteropatógenos. En general se usan múltiples medios y no existe ninguno que permita la detección del 100% de los patógenos por lo que la decisión de usar tal o cual medio de cultivo (Ejemplo: SS agar vs. Haektoen Agar, caldo selenito vs. tetracionato) es básicamente una preferencia personal¹⁶.

Si el coprocultivo no se aísla ninguno de los patógenos mencionados se reportará "Desarrollo de coliformes". Este término se refiere a las bacterias del género *Escherichia* junto con otros de la familia *Enterobacteriaceae* que comparten las características bioquímicas como fermentación de la lactosa, glucosa, etc. Si no se obtiene desarrollo de colonias se procede a informar: "No se obtiene desarrollo de coliformes. Marcada disbiosis intestinal".

La *Escherichia coli* es la bacteria más abundantes en el ser humano alcanzando concentraciones bacterianas en las heces de 10⁹ bacterias por gramo. También es la bacteria que con mayor frecuencia se aísla en los laboratorios de microbiología. En un coprocultivo por lo tanto es muy probable que esta crezca en cualquiera de los medios utilizados. Sin embargo para reportarla como patógena es necesario identificar qué serotipo es y no todos los laboratorios asistenciales están en capacidad de hacer estas pruebas especiales de tipificación. Todas las cepas sospechosas de patogenicidad, por lo tanto deberían ser enviadas a un centro de referencia con capacidad de serotipificarlas. Ciertos laboratorios asistenciales pueden reportar en forma errónea. "Desarrollo de *Escherichia coli*" Esto no significa que el paciente tenga una cepa de *E. coli* productora de diarrea sino que el laboratorio no está en capacidad de realizar una tipificación. El hecho de reportar "Desarrollo de coliformes" y a continuación indicar qué enteropatógenos se estudiaron en las heces es más certero. A pesar de que estas cepas patógenas de *E. coli* fueron descritas ya varias dé-

cadas atrás, la mayoría de métodos para lograr una serotipificación son complicados o costosos que no han logrado introducirse como pruebas de rutina en la mayoría de laboratorios asistenciales. La única prueba que se realiza en la mayoría de los laboratorios es la siembra en agar sorbitol para la detección de las cepas sorbitol negativas, para su posterior serotipificación¹⁹. Hay tantos tipos de *Escherichia coli*, que actualmente se definen como *E. coli* productoras de diarrea, *E. coli* que son parte de la flora normal entérica y *E. coli* con capacidad de producir infecciones genitourinarias, invadir sangre o causar meningitis. Las *E. coli* causantes de diarrea son enterotoxigénica, enteropatógena, enteroadherente, enteroinvasiva, enterohemorrágica. Estos grupos producen diferentes cuadros clínicos que varían de acuerdo a la susceptibilidad del huésped, y la incidencia geográfica. Los tipos de *E. coli* se detallan a continuación:

1. **Enterotoxigénica (ETEC)**²⁰, produce una diarrea acuosa por dos a 4 días, por lo general no severa, con calambres abdominales, fiebre, anorexia y vómito. Afecta principalmente a los niños pequeños y a los viajeros de los países industrializados a los subdesarrollados. Libera una toxina Termo lábiles TL, una toxina similar a la del cólera, la adenilatociclase. Y otra toxina termo estable TS, que es un péptido que estimula la ciclase guanilato intestinal. La prueba para diagnosticarla es a través de la hemaglutinación resistente a la manosa y el asa del conejo. Existe una prueba comercializada para detección de la Toxina

Termolábil (LT) (Phadebact ETEC-LT, Oxoid VET RPLA). Aún no existe prueba comercializada para la detección de la Toxina Termoestable (ST).

2. **Enterohemorrágica (EHEC)**^{21,22}, ocasiona una colitis hemorrágica con síndrome urémico hemolítico, se ha relacionado con epidemias por la ingestión de carne molida poco cocida, productos lácteos y afecta principalmente a niños y adultos mayores. Tiene una capacidad extraordinaria de adherencia, produce una toxina similar a la Shiga toxin 1 o 2 inhibiendo la síntesis proteica. Se diagnostica a través de la citotoxicidad de las células HeLa, mediante actina-inmuno fluorescencia. Hay pruebas comercializadas como la de látex: RIM, *Escherichia coli*, 0157:h7 Remel o Dry Spot Oxoid. También se puede investigar con pruebas no comercializadas como PCR^{18,23}.
3. **Enteroinvasiva (EIEC)**²⁴ ocasiona diarrea disintérica muy similar a *Shigella* pero menos severa, y afecta al colon principalmente. Se resuelve espontáneamente en 2 a 4 días. Está relacionada con diarrea del viajero y escasamente con brotes de intoxicación alimentaria en países en vías de desarrollo. Los pacientes pueden tener fiebre, malestar, anorexia, calambres. Realiza una invasión local de la mucosa. Se identifica mediante la prueba Sereny, el asa ileal de conejo y sondas de ADN. No hay pruebas comercializadas.
4. **Enteropatogénica (EPEC)**²⁵ Produce una diarrea acuosa profusa, es una causa frecuente de diarrea en ni-

ños. Es autolimitada, pero puede ser causa de severa deshidratación. La cepa tiene un factor de virulencia con la capacidad adherencia focal mediante *pili*. Se puede observar la adherencia localizada en las células Hep-2 y por actina fluorescencia. Hay antisueros comercializados²⁶.

5. **Enteroadherente (EAEC)**²⁷ Ocasiona una diarrea no muy severa sin sangre ni leucocitos. Sus mecanismos de patogenicidad aun no han sido establecidos con certeza. En este grupo se encuentra la **Enteroadherente Agregativa (EaggEC)**²⁸ que posee el mecanismo de adherencia agregativa en las células Hep-2, es una citotoxina. No hay pruebas comercializadas.

Un tipo de *E. coli* que no causa diarrea es una variedad de enteroadherente, es parte de la flora normal intestinal pero puede causar IVU, infecciones genitourinarias, va a sangre y meninges. Tiene la particularidad de adherirse, mediante *pili*. Posee un polisacárido capsular.

Existe una variedad de microorganismos que causan diarrea, por lo que la búsqueda de todos ellos puede ser muy costosa y poco efectiva. Los agentes etiológicos están relacionados con diferentes áreas geográficas por lo que los laboratorios de microbiología deben normatizar qué patógenos son los más comunes en su zona, para la realización de patógenos de rutina²⁹. La mayoría de los laboratorios en América Latina realizan en forma sistemática la búsqueda de *Salmonella* y *Shigella*. Muy pocos realizan investigación de *Campy-*

lobacter y es un patógeno que se debe incluir en la rutina. La búsqueda de otros enteropatógenos debe basarse en razones epidemiológicas o prevalencia geográfica, así por ejemplo: *Vibrio parahaemolyticus* en zonas donde la ingesta de mariscos es común, o *Yersinia enterocolitica*, y EHEC. La implicación de *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii* y *Plesiomonas shigelloides* en cuadros de diarrea, se basa en datos epidemiológicos, clínicos y estudios *in vitro*^{30,31}. El *Blastocystis hominis* causa diarrea con dolor abdominal, náusea y vómito, se considera agente etiológico cuando están en gran cantidad en las heces (15 a 30 por campo)³².

La localización anatómica de ciertas bacterias y parásitos causantes de diarrea, se encuentran en la tabla IV-5.

MUESTRAS ESPECIALES

Enterobius vermicularis

Las hembras de *E. vermicularis* rara vez ponen sus huevos dentro del intestino. Por lo general migran durante la noche a los pliegues perianales para oviponer. Séller (1876) al parecer fue el primero en recomendar el raspado anal o aplicación de hisopo para obtener material para la búsqueda de huevos. 60 años después Hall (1937) ideó un hisopo para la recogida de esta

muestra. En 1941 Graham introdujo la técnica de la cinta adhesiva transparente de celulosa Scotch™ para obtener huevos de las áreas anal y perianal. Se utiliza un baja-lenguas (madera o plástico) de 7-8 cm de longitud por 1.5 cm de anchura, en uno de cuyos extremos se coloca la cinta adhesiva transparente con la cara engomada hacia fuera, o sea, contraria al baja-lenguas. Por la mañana antes de levantarse el paciente se separa las nalgas y se hace presión hacia ambos márgenes para que en la cara engomada queden adheridos los huevos y la parte adhesiva de pega a varios puntos de la región perianal. En el laboratorio se coloca el lado adhesivo hacia abajo en un portaobjetos con una gota de suero salino o lugol o azul de tolueno. Este método tiene un porcentaje de recuperación del 90% en comparación con el 5% del coproparasitario. Figura IV-1.

Muestras con purgante y enema

Los purgantes hacen que las heces se hagan líquidas y esto induce la maduración de los parásitos. Lo que permitirá la observación de trofozoítos en mayor proporción que en las heces sólidas. Además el incremento del peristaltismo producido por el purgante, mezcla las heces y así permite una distribu-

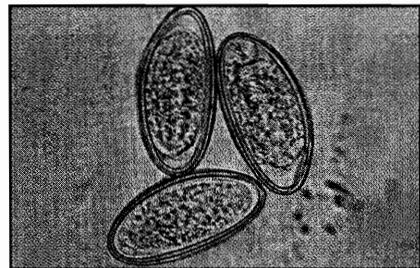


Figura IV-1
Huevos de *Enterobius vermicularis*, obtenidos con la técnica de Graham

ción de los parásitos más uniforme. Además tanto el purgante como el enema permiten heces que se colorean con facilidad, también por el movimiento producido hay mayor probabilidad de que se eliminen los segmentos de *Taenia spp* y los gusanos adultos como *Ascaris lumbricoides* y *Enterobius vermicularis*. Naturalmente la indicación del uso de purgante o enema es exclusivamente realizada por el médico tratante.

Biopsia rectal

Sirve para la recuperación de parásitos localizados en colon. Como *Entamoeba histolytica*, *Schistosomas* o *Trichuris trichiura*. La biopsia es tomada por el médico especialista a través de un colonoscopio o sigmoidoscopio flexible. En el caso de amebiasis se observa sobre una mucosa normal o apenas congestiva ulceraciones redondeadas, rodeadas por un halo rojo cubiertas de una capa blanquecina (capa difterioidea). Bajo esta capa aparece una pequeña ulceración llena de una especie de ampolla grisácea de un aspecto pseudoforunculooso. Se toma de la lesión si es que se logra observarla o sino al azar. Se coloca el fragmento de la biopsia en suero salino (se sugiere pegarlo a un pedacito de cartón) y se envía al laboratorio inmediatamente.

En el laboratorio se realiza la impronta aplastando la biopsia entre dos portaobjetos, se coloca suero salino, un cubreobjetos y se observan los dos montajes para la búsqueda de huevos o de trofozoítos. Nunca envíe hisopados de las lesiones.

Aspirado duodenal

Después de una noche de ayuno, sedar al paciente con pentobarbital u otro, vía parenteral. Insertar el tubo Diamond doble luz (o sonda nasogástrica) a través de la boca y pasar 45 cm para alcanzar el cardias. Coloque al paciente en decúbito lateral izquierdo con la cabeza levantada aproximadamente 40 cm. Luego tiene que el paciente tragar el tubo otros 15 cm hasta llegar a la curvatura mayor del estómago. El paciente se sienta al filo de la cama con el cuerpo doblado para que el tubo entre al antrum. Se recuesta decúbito lateral derecho con los pies elevados por unos 5 minutos para permitir que la peristalsis desplace al tubo hacia el duodeno. Luego se coloca en decúbito dorsal por unos 5 minutos mientras el tubo avanza lentamente unos 10 a 15 cm más. Afine o corrija la posición con la ayuda de la fluoroscopia. Se aspira el contenido y se envía al laboratorio. El contenido duodenal debe ser examinado dentro de las dos horas de la aspiración y no se aconseja el uso de preservativos. Se centrifuga la muestra y se observa el sedimento para la búsqueda de trofozoítos de *Giardia lamblia*, Huevos de



Figura IV-2
Larva de *Strongyloides stercoralis*.

Uncinarias, Larvas de *Strongyloides stercoralis*. Figura IV-2 En el caso de requerir la investigación de huevos de *Fasciola hepatica* se debe provocar una descarga de bilis mediante la inyección de 20 ml de Sulfato de Magnesio (SO₄Mg) al 30% a través de la sonda. Figura IV-3.

Método de la cuerda

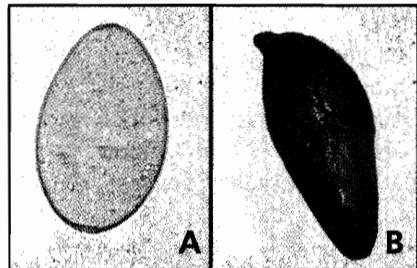
Conocido como "**string test**" (Enterotest [HDC Corporation, San Jose, CA]), puede ser utilizado para detectar *Giardia*, *Cryptosporidium*, y ocasionalmente *S. stercoralis*. Este dispositivo consiste en una cápsula de gelatina la cual tiene en su interior un rollo de cuerda nylon. El paciente se traga la cápsula y ésta llega a duodeno gracias al peristaltismo, luego de 4 horas, la cápsula es retirada a través de la cuerda por la boca y la porción que contiene el moco biliar es enviado al laboratorio. Debe ser examinado máximo en una hora. No permita que se seque ni refrigere. Coloque el contenido de la cuerda en suero salino y observe al microscopio. Es importante registrar el pH y el color de la parte terminal de la cuerda para confirmar que llegó a duodeno.

BIOPSIA DEL ANTRO GÁSTRICO PARA *HELICOBACTER PYLORI*

Por mucho tiempo se creyó que el medio ambiente ácido del estómago, un

pH <1.5 era suficientemente hostil para que bacteria alguna escogiera este sitio para vivir y desarrollarse. Se consideró al estómago un antro libre de bacterias. En 1979, Robin Warren un patólogo australiano, observaba en su ciudad Perth, las biopsias gástricas que le llegaban para estudios histopatológicos y se dio cuenta que en ellas habían unas bacterias curvas. Estas bacterias no estaban dentro de la mucosa gástrica sino en la capa de moco que recubre el tejido gástrico. Al revisar la literatura médica Warren encontró que estas bacterias ya habían sido descritas por los patólogos europeos a finales del siglo XIX, pero debido a que ellos nunca la pudieron cultivar, el tema poco a poco perdió vigencia y pasó al olvido, hasta que un médico joven Barry Marshall se interesó en las observaciones de Warren y juntos se propusieron desarrollar algún medio de cultivo en el que desarrollara este bacilo. Como era curvo y Gram negativo usaron los mismos métodos que para *Campylobacter*, atmósfera especial e incubación de 3 días. Sembraron 30 biopsias de estómago en estos medios de cultivo pero ninguna bacteria creció. Se intentó nuevamente la siembra, los cultivos fueron incubados por 5 días, debido a que se quedaron sin ser

Figura IV-3
A. Huevo de *Fasciola hepatica*.
B. Parásito adulto



examinados durante un feriado de Semana Santa y curiosamente las colonias habían crecido y pudieron ser observadas. Con el aumento del tiempo de incubación (de 3 a 5 días) se pudieron cultivar en 11 biopsias y el microorganismo se lo caracterizó como *Campylobacter pyloridis*, (ahora conocido como *Helicobacter pylori*) era el año 1982. A partir de los primeros reportes de Marshal Y Warren^{33,34} en la revista científica Lancet en 1984, un sinnúmero de publicaciones posteriores confirmaron este hallazgo y se estableció que el *H. pylori* estaba asociado con la presencia de inflamación en la mucosa gástrica (Gastritis crónica superficial) y especialmente con infiltración de polimorfonucleares (gastritis crónica activa). En 1990 con los estudios de Blazer³⁵ se llegó a establecer el rol etiológico de esta bacteria en la úlcera gástrica. En 1994 en una conferencia de consenso celebrada por el National Institutes of Health³⁶ se concluyó que el *H. pylori* era la principal causa de enfermedad úlcera péptica y se recomendaba que los individuos con esta patología debían ser tratados para erradicar el organismo. Hasta el momento había una amplia evidencia que la gastritis crónica estaba muy ligada al desarrollo de adenocarcinoma de estómago, un tumor frecuente en el mundo, pero la causa de la gastritis era desconocida. En 1991 cuatro estudios importantes^{37,38,39,40} mostraron una clara relación entre el *H. pylori* y la presencia o el desarrollo de cáncer gástrico. En 1994, la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer, una división de la Organización Mundial de la Salud, revisó la evidencia

científica del momento y declaró al *H. pylori* como un carcinógeno de humanos. Hoy esta bacteria también se la asocia con el desarrollo de linfomas gástricos no-Hodgkin, con otros desórdenes linfoproliferativos, con tejido linfoide asociado a mucosa gástrica (MALT) y linfoma (MALToma). Interesantemente los pacientes de este último grupo que han sido tratados con antibióticos y erradican el *H. pylori*, se ha observado a menudo una regresión del tumor.

Así, esta bacteria insignificante que pasó inadvertida hace 2 siglos y que a finales del siglo pasado llamó la atención de dos científicos, en este siglo su importancia ha alcanzado tal magnitud que se la considera el agente etiológico de una de las infecciones crónicas más comunes en el mundo. En los países en vías de desarrollo el 70 a 90% de las poblaciones son portadoras de *H. pylori*, casi todos ellos adquieren la infección antes de la edad de 10 años. En los países desarrollados la prevalencia de la infección es baja, del 25 a 50%.

Al parecer hay tres rutas de diseminación, la primera y menos frecuente es la iatrogénica, es decir a través de los tubos de endoscopias. Por lo tanto los endoscopios deben cumplir con las normas de desinfección. Es interesante señalar que los endoscopistas que no utilizan guantes durante el procedimiento tienen un alto riesgo de infectarse⁴¹. Aunque no parece que hay un riesgo especial asociado con la manipulación de este microorganismo, los que trabajamos con él, en los laborato-

TABLA IV-4

Pruebas disponibles para la investigación de *Helicobacter pylori*

PRUEBA	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)	ENDOSCOPIA
Histología	93-98	95-98	Si
Cultivo	77-95	100	Si
Test rápido ureasa	89-98	93-98	Si
PCR (Mucosa gástrica)	85-96	90-100	Si
Test del aliento ¹³ C y ¹⁴ C*	90-95	90-95	No
Serología	88-95	86-95	No
Antígeno en heces	95-90	90-95	No

*¹³ C-UBT= el isotopo ¹³C es detectado por espectrofotometría de masa

*¹⁴ C-UBT= el isotopo ¹⁴C es detectado por centillometría

rios debemos seguir las precauciones universales cuando manipulemos este tipo de muestras.

La otra ruta es naturalmente la "fecal-oral", la cual al parecer sería la más importante en la cadena de diseminación. Y la otra ruta considerada es la "oral-oral" y ha sido documentada en Africa donde las mujeres mastican previamente la comida que van a dar a sus bebés. Sin embargo a pesar que el *H. pylori* está presente en los estómagos de la mitad de la población mundial todavía no está del todo clara su transmisión. Al parecer no hay un reservorio sustancial de *H. pylori* fuera del estómago humano. Otros animales albergan bacterias parecidas, pero con excepción de los primates no humanos y los gatos (bajo circunstancias muy especiales), ningún otro animal alberga *H. pylori*.

boratorio para el diagnóstico^{42,43}. Vea tabla IV-4. El estudio histológico del tejido gástrico, cultivo del tejido, test rápido de ureasa, sondas de ADN, análisis por PCR, lamentablemente todas estas necesitan de tejido gástrico por lo tanto requieren de una endoscopia, un método invasivo con riesgos. Además de estas pruebas existen el test del aliento, serología, PCR del jugo gástrico, excreción urinaria (15N Amonio) y detección de la bacteria en heces que no requieren endoscopia. La biopsia para cultivo puede ser colocada en un caldo de dextrosa fosfato⁴⁴. El cultivo tiene la ventaja que se pueden realizar pruebas de sensibilidad y conocer los patrones de resistencia que presenta esta bacteria⁴⁵. La elección de la prueba dependerá en la mayoría de los casos de la información clínica, la disponibilidad local y el costo de cada una de ellas.

Existe una variedad de pruebas de la-



TABLA IV-5

Localización anatómica de ciertas bacterias y parásitos causantes de diarrea

INTESTINO GRUESO		INTESTINO DELGADO
BACTERIA	PARÁSITO	PARÁSITO
<i>Aeromonas</i>	<i>Amoeba</i>	<i>Cryptosporidium</i>
<i>Plesiomonas</i>	<i>Trichuris</i>	<i>Cyclospora</i>
<i>Campylobacter</i>	<i>Schistosoma</i>	<i>Giardia lamblia</i>
<i>Clostridium difficile</i>		<i>Isospora belli</i>
<i>Salmonella</i>		<i>Strongyloides</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>		

DIARREA CRÓNICA

La mayoría de la diarrea infecciosa es aguda sin embargo en algunas situaciones ciertos patógenos pueden causar diarrea crónica, esto se presenta en individuos inmunodeprimidos tales como en HIV-SIDA, pacientes con terapia con esteroides e inmunosupresores. Vea tabla IV-6. Es bien conocido que *Campylobacter* y *Salmonella* pueden causar diarrea crónica persistente en pacientes con infección por HIV.

Las causas bacterianas de diarrea crónica son infrecuentes pero pueden estar involucradas *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium difficile*, *Salmonella*, y *Mycobacterium tuberculosis*.

También están involucrados los parásitos como *Cryptosporidium* (Figura IV-4), *Cyclospora*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Isospora belli*, *Schistosomiasis*, *Strongyloides*, *Trichuris trichuria* y *Blastocystis hominis*. Existen factores de riesgo bien conocidos, así el viajar a zonas endémicas como Rusia predispone a infecciones por *Giardia*, a Nepal por *Cyclospora* o en las guarderías infantiles es común infectarse con *Giardia* y *Cryptosporidium*.

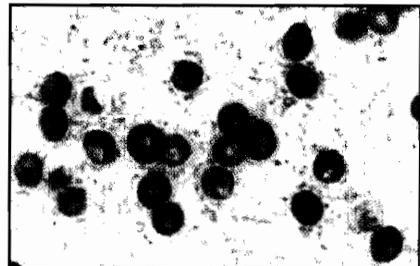


Figura IV-6
Ooquistes de *Cryptosporidium*.
Coloración Ziehl Neelsen modificado.

TABLA IV-6

Características de los microorganismos causantes de Diarrea Crónica.

MICROORGANISMO	ACCIÓN PATÓGENA	FUENTE DE CONTAGIO	CUADRO CLÍNICO	CRONICIDAD
<i>Aeromonas sp</i>	Enterotoxina Hemolisina y Citotoxina	Agua no tratada	Diarrea acuosa (ocasionalmente con sangre) vómito, fiebre.	Se resuelve en una semana pero puede durar 1 año
<i>Plesiomonas sp</i>	No esta claro. Algunas especies producen una citotoxina	Agua no tratada. Mariscos poco cocidos	Calitis y diarrea con sangre, dolor abdominal y fiebre	Se resuelve en dos semanas
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Adhesión de la bacteria al epitelio y subsecuente invasión. Produce una enterotoxina. El ileo terminal es el blanco, el colon es atacado con menor frecuencia.	Agua. Leche y helados Variedad de animales Embutidos	Diarrea, dolor abdominal es común fiebre y diarrea sanguinolenta son menos frecuentes. Adenitis mesentérico en niños mayores de 5 años. Adultos rash (eritema nodoso o multiforme) o Poliartropatía reactiva en el 2% de pacientes (HLA-B27)	Se resuelve en 1 a 3 semanas pero puede prolongarse
<i>Salmonella</i>	Invasión de la mucosa que llevan a la producción local de exudados inflamatorios y de mediadores que estimulan la secreción de electrolitos y la contracción del músculo liso.	Aves, carnes, huevos y productos lácteos son los mayormente implicados. Se transmite a través de contacto personal y ruta fecal-oral	Nausea y vómito, calambres abdominales. Diarrea puede ir de netamente acuosa a severa disentería. Fiebre 50% de casos	Periodo de incubación 6 a 48 horas. Los síntomas pueden durar 3 a 4 días A veces 12 días. Pueda haber un estado de portador de Salmonella no typhi en 4 por 1000
<i>Mycobacterium</i>	Invasión de la mucosa. Compromiso del intestino delgado que puede causar estorrea y síndrome de malabsorción. Un tercio de los pacientes con tuberculosis gastrointestinal tiene diarrea. Puede causar ulceraciones y diarrea mucosa.	Diseminación vía hematogena desde un foco de tuberculosis miliar activa. Deglución de esputos infectados. Ingestión de leche o comida contaminados Diseminación desde otros órganos afectados	Dolor abdominal, pérdida de peso, fiebre, cambios en los hábitos intestinales, malestar, sudoración nocturna, anorexia, náusea, vómito, melenas y sangrado rectal. En el 25 a 50% de los casos se pueden encontrar una masa en el cuadrante inferior derecho	Diarrea con sangrado rectal durante semanas o meses.
<i>Clostridium difficile</i>	Toxina A Toxino B	Perturbación de la flora habitual intestinal por uso de antibióticos o quimioterapia	Síntomas típicos son diarrea acuosa y calambres abdominales También se presento severos casos de diarrea sanguinolenta, fiebre, dolor abdominal	3 a 4 días con resolución en 2 semanas 20% recaen
<i>Cryptosporidium</i>	Desconocida aunque parece ser que está correlacionado con la localización anatómica afectando el transporte iónico de cloruro de sodio de la mucosa ileal y del yeyuno	Contacto de persona a persona, animal a persona, medio ambiente Contacto con animales Agua, agua potable y agua de piscinas	Generalmente no hay fiebre. La diarrea puede durar algunos meses y puede estar asociada con fatiga, flatulencia, dolor abdominal	4 a 6 semanas o más

BIBLIOGRAFÍA

1. Guerrant RL, Bobak DA. Bacterial and protozoal gastroenteritis. N Engl J Med. 1991;325:327-340
2. Korzeniowski OM, Basada FA, Rouse JD, et al. Value of examination for fecal leukocytes in the early diagnosis of shigellosis. Am J Trop Med Hyg. 1979;28:1031-1035 esta es la de los pañales
3. Melvin DM, Brooke MM. Laboratory procedures for the diagnosis of intestinal parasites, 3rd ed. 1982. HHS publication No [CDC]82-8282, US Department of Health and Human services. Atlanta, Ga
4. García LS, Bruckner DA. Diagnostic medical parasitology, 3rd ed. Washington, DC. ASM press; 1997
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the Recovery and Identification of Parasites from the Intestinal Tract. Proposed guideline M28-P. 1993. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova. Pa
6. Hiatt R, Markell E, Ng E: How many stool examinations are necessary to detect pathogenic intestinal protozoa? Am J Trop Med Hyg. 1995; 53:36-39,
7. Melvin DM, Smith JW. Intestinal parasitic infections: Problems in laboratory diagnosis. 1979;10:207-210
8. García LS, Vogue M. Diagnostic clinical parasitology. I Proper specimen collection and processing. 1980;46:459-467
9. Zurita J., Acosta S., Soriano F. Prevalencia de oquistes de *Cryptosporidium* en muestras fecales enviadas para estudio microbiológico de rutina en un hospital general de Madrid. 1987. Revista Clínica Española 181:4 182-184
10. Sack RB, Tilton RC, Weissfeld AS. Cumitech 12, Laboratory diagnosis of bacterial diarrhea. Coordinating ed., S.J. Rubin.1980. American Society for Microbiology, Washington D.C.
11. Hines, J, Nackamkin I. Effective use of the clinical microbiology laboratory for diagnosing diarrheal diseases. Clin Infect Dis. 1996;23(Suppl 1):S97-S101
12. Harris JC, DuPont HL, Hornick RB. Fecal leukocytes in diarrheal illness. Ann Intern Med. 1972;76:697-703
13. Guerrant RL, Principles and syndromes of enteric infection. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. eds. Mandell, Douglas and Bennet's principles and practice of infectious diseases. 4th ed. Vol 1. New York: Churchill Livingstone, 1995:945-962
14. Cooper GS, Lederman MM, Salata RA. A predictive model to identify *Clostridium difficile* toxin in hospitalized patient with diarrhea. Am J Gastroenterol 1996; 91:80-84
15. Nachamkin I. Laboratory diagnosis of bacterial gastroenteritis. Adv Pathol Lab Med 1994;7:259-271
16. Valenstein P, Pfaller M, Yungbluth M. The use and abuse of routine stool microbiology: a College of American Pathologists Q-probes study of 601 institutions. Arch Pathol Lab Med 1996;120:206-211
17. Church DL, Cadrain G, Kabani A, et al. Practice guidelines for ordering stool cultures in a pediatric population. Am J Clin Pathol 1995r;103:149-153
18. Marti H. Coella JC. Multiple stool examinations for ova and parasites and rate of false-negative results. J. Clin Microbiol 1993;31:3044-3045
19. Siegel D.L, Edelstein PH, Nachamkin I. Inappropriate testing dor diarrheal diseases in the hospital. JAMA. 1990:263:979-82
20. Sack RB. Human diarrheal diseases caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. Annu Rev Microbiol. 1975; 29:333-353
21. Karmali MA, Petric M, Lim C, Fleming PC, Steele BT. *Escherichia coli* cytotoxin, hemolytic-uremic syndrome, and hemorrhagic colitis. Lancet 1983;ii:1299-1300

22. Griffin PM, Ostroff SM, Tauxe RV, et al: Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections: a broad clinical spectrum, *Ann Intern Med* 109:705, 1988.
23. Rowe PC, Orrbine E, Lior H, et al: Risk of hemolytic uremic syndrome after sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infection: results of a Canadian collaborative study, *J Pediatr* 132:777, 1998
24. Boileau CR, d'Hauteville HM, Sansonetti PJ: DNA hybridization technique to detect *Shigella* species and enteroinvasive *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 20:959, 1984
25. Tullock EF, Ryan KJ Jr, Formal SB, Franklin FA. Invasive enteropathogenic *Escherichia coli* dysentery. *Ann Intern Med* 1973;78:13-17
26. Gangarosa EJ, Merson MH. Epidemiologic assessment of the relevance of the so-called enteropathogenic serogroups of *Escherichia coli* in diarrhea. *N Engl J Med.* 1977;296:1210-1213
27. Scaletsky IC, Fabbrocetti SH, Aranda KR, et al. Comparison of DNA hybridization and PCR assays for detection of putative pathogenic enteroadherent *Escherichia coli* *J Clin Microbiol* 2002; 40:254-258
28. Okeke IN, Nataro JP. Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Lancet Infect Dis* 2001;5:304-313
29. Zurita J. Etiología del Síndrome Diarréico en las distintas regiones del Ecuador. *Biopatología Andina Y Tropical Ecuatoriana.* Tomo II. 1995; 683-698
30. San Joaquin V, Pickett D: *Aeromonas*-associated gastroenteritis in children. *Pediatr Infect Dis J* 7:53-57, 1988
31. Kain K, Kelly M: Clinical features, epidemiology, and treatment of *Plesiomonas shigelloides* diarrhea. *J Clin Microbiol* 27:998-1001, 1989
32. Zurita J, Cárdenas S, Zurita C, et al. *Blastocystis hominis*, protozooario implicado en trastornos gastrointestinales. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas.* 1987;12: 99-103
33. Warren, J.R., and B.J. Marshall. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithellum in active chronic gastritis. *Lancet* i:1273-1275
34. Marshall, B.J. and J.R. Warren. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* i: 1311-1315
35. Blaser, M.J. 1990. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *J. Infect Dis.*18:626-633
36. NIH Consensus Conference. 1994. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on Helicobacter pylori in peptic ulcer disease. *JAMA* 2376: 1710
37. Talley, N.J., A.R. Zinsmeister, A. Weaver, E.P. DiMagno, et al. 1991. Gastric adenocarcinoma and *Helicobacter pylori* infection. *J. Natl. Cancer Insts.* 83: 1734-1739
38. Forman D., D.G. Newell, F. Fullerton, J.W. Yarnell et al. 1991. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *Br. Med. J.* 302:13021305
39. Nomura, A., G.N. Stemmermann, PH. Chyou, I Kato, et al. 1991. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N. engl. J. Med.* 325:1132-1136
40. Parsonnet, J., G.D. Friedman, D.P. Vanders-teen, Y. Chang, et al. 1991. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 325:1127-1131
41. Akamatsu, T., K. Tabata, M. Hironga, H. Kawakami, et al. 1996. Transmission of *Helicobacter pylori* infection via flexible fiberoptic endoscopy. *Am. J. Infect. Control.* 24:396-401
42. Andersen, L, P. and F. Espersen. 1992. Immunoglobulin G antibodies to *Helicobacter pylori* in patients with dyspeptic symptoms investigated by the Western immunoblot technique. *J. Clin. Microbiol.* 30:1743-1751
43. Cohen, H., L. Bautista, H. Crowe, C. Johnson et al. 1995. Comparison of culture and histo-

- logy to seven commercial test for *Helicobacter pylori*. Am J. Gastroenterology. 90:1579
44. Parsonnet J., Welch K., Compton C. et al. Simple microbiologic detection of *Campylobacter pylori*. J Clin Microbiol. 1988. 26:948-
45. Zurita G, Zurita J, Oñate X, y Espinoza Y. Patrones de resistencia secundaria de *Helicobacter pylori* a metronidazol y claritromicina en Quito. Rev Fac Cien Med. 2001; 26:23-26.

Obtener una biopsia consiste en tomar una muestra de tejido en un sujeto vivo, para realizar estudios histológicos, histoquímicos, físicos, químicos y/o cultivos. Una biopsia se realiza con uno de los objetivos siguientes:

1. Establecer el diagnóstico de una determinada patología,
2. Establecer una terapéutica (en ocasiones la biopsia es terapéutica en sí, cuando se realiza en el mismo acto de la biopsia, la ablación total de la lesión)
3. Establecer una estrategia quirúrgica, con fines pronósticos, determinando la agresividad de un tumor al valorar la invasión ganglionar o de tejidos circundantes, en el acto operatorio como son las biopsias por congelación, cuando no se hace fijación. Es para diagnóstico rápido, en quirófano. En estos tejidos se pueden hacer estudios histoquímicos.
4. Para control de un paciente en cuanto a la evolución del cuadro clínico, el seguimiento se puede hacer por biopsias seriadas en el tiempo; por ejemplo: punción aspiración periódica de médula en la cresta ilíaca, utilizada en las leucemias.
5. Para la detección de marcadores tumorales en los tejidos de la biopsia, (PA 53, CA 19, ABH, antígeno de superficie) que al ser después detectados serológicamente, nos indican recidiva tumoral.

Cuando se necesita conocer si el paciente tiene un proceso infeccioso localizado en algunos de sus órganos internos, la muestra debe ser obtenida a través de una biopsia. Los tejidos obtenidos a través de un procedimiento inva-

sivo, son procesados de una manera diferente que las descritas para otras muestras¹. En primer lugar, todas ellas deben ser manipuladas con guantes y dentro de una cabina de seguridad, pues existen un sinnúmero de bacterias, hongos, parásitos y virus que pueden invadir e infectar este tipo de tejidos, muchos de ellos con riesgo Categoría A. En segundo lugar, pueden requerir cultivos especiales y el tiempo de incubación para la recuperación de un microorganismo suele ser mayor a lo establecido (pueden ser semanas a diferencia de las 48 a 72 horas que se requiere para los cultivos convencionales). Estas muestras requieren de tinciones de Gram, Ziehl Neelsen, Giemsa u otra. En tercer lugar, se debe guardar, si la cantidad lo permite, un pedazo en refrigeración para posibles investigaciones futuras. Y por último, muchas de estas muestras deben ser enviadas conjuntamente a patología, pues la mayoría de los agentes etiológicos no se logran detectar con métodos microbiológicos, algunos de ellos únicamente los ve el patólogo (*Rhinosporidium*, *Trichinella*, etc), o puede ser que en el laboratorio de Microbiología aislemos un hongo ambiental, *Aspergillus spp.*, por ejemplo. Para confirmar que este hongo es el agente etiológico del proceso infeccioso, es necesario que el patólogo observe las hifas tabicadas, dicotómicas, invadiendo el tejido. Esto es importante, sobre todo en los pacientes inmunocomprometidos, en ellos muchos microorganismos que son ambientales o colonizadores, pueden ser los agentes etiológicos del proceso infeccioso.

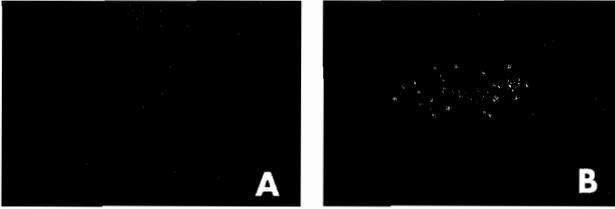


Figura V-1
Candida (Torulopsis) glabrata A.
 Biopsia de tejido renal con
 levaduras en gemación.
 Coloración Hematoxilina-Eosina.
 B. Colonias de levaduras recu-
 peradas de la siembra del teji-
 do renal.

TOMA DE LA MUESTRA

Para la correcta toma de la muestra, se debe escoger la técnica apropiada de acuerdo a la patología. El realizar una biopsia, implica que invadiremos algún tejido del paciente, por lo que el ambiente quirúrgico, el instrumental y la anestesia deben ser adecuadas; la asepsia perfecta y la técnica depurada.

Una biopsia puede ser tomada de diversas formas, dependiendo del cuadro clínico y el objetivo de la biopsia.

Abrasión: Acción o efecto de raer o desgastar por fricción. Por ejemplo: Balón abrasivo. Superficie lisa sobre superficie lisa.

Aspiración:

- A veces punción aspiración (Menghini)
- Tiroides
- Hígado

Cepillado: Biopsias endoscópicas.

Escisión: Extirpación de un pedazo de tejido.

Escoplado o trepanado: Utilizada principalmente para hueso.

Incisión: Biopsia de cualquier tejido superficial, se saca una parte del tejido por sección a través de bisturí.

Punción:

- Tiroides
- Hígado - Aguja de Vim Silverman y de Menghini
- Bazo
- Pleura - Aguja de Cope
- Médula ósea, en cresta ilíaca o en esternón

Raspado o curetaje: en útero y hueso.

Sacabocados: cuello uterino, biopsias endoscópicas, piel.

ERRORES FRECUENTES QUE SUCEDEN EN EL ENVÍO DE UNA BIOPSIA PARA ESTUDIO MICROBIOLÓGICO:

- *Enviar la muestra en formol.*
- *Material inadecuado: escaso, mal tratado (destrucción en la obtención), coagulado, no representativo del proceso infeccioso*
- *Extravío de la biopsia.*
- *Alteración de datos, o datos insuficientes.*
- *Rotulación equivocada.*

El tejido generalmente es tomado durante una cirugía o a través de una biopsia o en una autopsia. Muchos microorganismos pueden ser el agente etiológico del proceso patológico-infeccioso, por lo tanto cuando se recibe un tejido, debe ser procesado en busca de una variedad de agentes infecciosos y es sumamente importante la orientación clínica².

Debido a que las muestras quirúrgicas son obtenidas con un gran riesgo para el paciente, son costosas, no pueden en muchas ocasiones volverse a tomar y no son fácilmente obtenibles, es importante que el laboratorio guarde una porción del tejido original en una pequeña cantidad de caldo estéril en el refrigerador a -20°C (si es posible a -70°C) durante 1 mes para estudios adicionales o repeticiones. Las muestras deben ser cultivadas para virus y para *Mycobacterium* si son solicitadas. Si se necesita investigar parásitos se debe enviar la muestra al anatómo-patólogo³.

Los tejidos provenientes de cerebro, pulmón, hígado, ganglios linfáticos, líquido cefalorraquídeo y sangre son de utilidad para la búsqueda de virus. El tejido se coloca en el medio de transporte para virus y se envía a 4°C. Siempre que sea posible envíe la mayor cantidad de tejido. Nunca

1. La biopsia es colectada asépticamente y enviada en un recipiente estéril de boca ancha con tapa de rosca que contenga un poco de solución salina estéril para mantener húmedo el tejido (los recipientes para orina tapa rosca son aceptables.) No utilice suero fisiológico de las ampollas para inyección debido a que contienen sustancias antimicrobianas.
2. Concomitantemente se debe colocar otra muestra en un recipiente que contenga formaldehído y ser enviado para estudio histopatológico.
3. Los anaerobios viven lo suficiente en el tejido por lo que no hace falta medio de transporte.
4. Suele ser necesario comunicar al laboratorio que se enviará una biopsia y luego confirmar la recepción de la misma.
5. La biopsia debe ir con la información clínica de la sospecha del agente etiológico, para que en el laboratorio se orienten en la investigación.

BEST AVAILABLE COPY



Figura V-2
Actinomyces israelii. A. Muestra purulenta de absceso. Obsérvese los gránulos de azufre. B. Coloración de Gram. Obsérvese los bacilos Gram positivos ramificados.

envíe hisopados. Los tejidos pueden ser examinados por inmunofluorescencia para los virus como herpes simplex, varicella zoster, citomegalovirus y rabia. Esta técnica también es útil para bacterias como *Legionella*, *Yersinia pestis*, *Bacillus anthrax* y ciertos *Bacteroides*⁴.

Si se trata de material de abscesos y de tractos sinuosos, envíe el material purulento junto con la pared o cápsula. Los cultivos de los drenajes o fistulas sinuosas pueden estar contaminadas con microorganismos de la propia flora de la piel, o las mucosas o con contaminantes. En el caso de actinomicetomas al tomar el aspirado del material purulento se pueden observar los gránulos amarillo conocidos como "gránulos de azufre" característicos de estas lesiones. Vea figura V-2. Para los tejidos contaminados como amígdalas, adenoides o tejidos de autopsias, sumergir durante 10 segundos en agua hirviendo o cauterizar con una espátula caliente la superficie del tejido, evitando la contaminación del mismo y al sembrar debemos tomar la parte central del tejido⁵.

Material proveniente de tejido de endocarditis debe enviarse una porción de la válvula y las vegetaciones (Si se va reemplazar la válvula en el paciente). En los pacientes con quemaduras es importante realizar el recuento de colonias por gramo de tejido enviado. Si el recuento es mayor 10^5 ufc por gramo de tejido es indicativo de infección, mientras que recuentos menores pueden indicar colonización⁶.

El tejido quirúrgico o la biopsia debe colocarse en un envase estéril de boca ancha con tapa rosca en solución salina estéril.

Una vez en el laboratorio el tejido debe ser triturado mediante unas tijeras y pinza. Otra opción es colocar el tejido en un mortero estéril con arena estéril y un poco de caldo de cultivo (tioglicolato) o suero fisiológico (si es tejido pulmonar no usar solución salina debido a que inhibe el crecimiento de *Legionella*) y proceder a triturarla. O puede ser colocada en un molino especial para tejidos, sin embargo este último no es ideal debido a que ciertos microorganismos pueden ser igualmente destruidos. Al parecer la primera opción es la más adecuada.

En muchas ocasiones el material extraído a través de una biopsia es tan escaso (biopsia cerebral estereotáxica, cilindro hepático, etc.) que es indispensable priorizar la búsqueda pues posiblemente no alcanzará para todos los análisis solicitados. En estos casos es necesaria la comunicación con el médico tratante para establecer qué cultivo o tinción realizar, de acuerdo a la sospecha clínica. El microbiólogo debe estar en contacto con el anatómo-patólogo para la valoración de los hallazgos o sospechas.

TEJIDOS POSTMORTEM

El valor de los cultivos postmortem es limitado. Se debe realizar en un período menor a las 6 horas de ocurrida la muerte⁷. Si ha transcurrido un tiempo mayor ya no tendrá valor debido a la contaminación generalizada postmortem, por las bacterias provenientes del intestino grueso. Se debe tomar muestras de varios tejidos, pues el cultivo de tejido de un sólo órgano raramente proporciona suficiente información para determinar el significado de un

cultivo positivo. Por lo tanto únicamente el cultivo postmortem de varios órganos puede ser de valor para identificar el agente etiológico de un proceso infeccioso, especialmente en caso de sepsis fulminante⁸.

El cultivo de tejidos postmortem tomadas en una autopsia puede proporcionar información útil, pero deben ser tomadas rápidamente y en forma aséptica; necesita una evaluación especial y debe reservarse para casos seleccionados en los cuales es posible tomar una muestra aséptica de una lesión, de un espacio cerrado, o tomar varias muestras de diversos tejidos^{9,10}. De ninguna manera el cultivo debe ser realizado en forma habitual. Por lo tanto el procesamiento de este tipo de muestras debe estar regulados en cada institución.

PUNCIÓN MEDULAR Y BIOPSIA POR ASPIRACIÓN

La punción medular es muy útil para el diagnóstico de algunas enfermedades infecciosas como histoplasmosis, blastomycosis, tuberculosis, leishmaniasis entre otras. Ciertos agentes infecciosos pueden ser observados en un frotis de médula ósea o si cultivamos pueden crecer con facilidad como *Brucella spp* y *Salmonella typhi*.

TOMA DE LA MUESTRA. ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA

La médula ósea tiene varios sitios de abordaje, los huesos esponjosos principalmente, crestas ilíacas, vértebras, meseta tibial, costillas, esternón. El propósito del aspirado es el estudio de una parte de su componente celular sin su estructura histológi-

ca¹¹. Se explicará al paciente en qué consiste el procedimiento y dependiendo de la regulación de cada hospital, una autorización escrita. Los sitios preferidos para la punción-aspiración de la médula ósea son: esternón a nivel del segundo espacio intercostal, crestas ilíacas, meseta tibial y excepcionalmente costillas.

MATERIALES

- Aguja de Illinois o de Rosenthal
- Láminas portaobjeto perfectamente limpias en cantidad suficiente para el estudio (entre diez a doce).
- Dos jeringuillas, una de 5 cc y otra de 10 cc.
- Medio apropiado para el estudio: solución fisiológica, formol o medio de cultivo.
- Gasa estéril
- Xilocaína o Lidocaína
- Solución de povidona yodada u otro material desinfectante.
- Guantes estériles.
- Campo quirúrgico.

PROCEDIMIENTO

- Una vez escogido el sitio del aspirado se desinfecta perfectamente.
- Se coloca el campo quirúrgico.
- Se hace un habón anestésico hasta el periostio con Xilocaína o Lidocaína.
- Se introduce la aguja hasta una profundidad de 5 mm luego de perforar el periostio.
- Se retira el mandril de la aguja.
- Se conecta la jeringuilla estéril y se aspira suavemente hasta obtener unas pocas gotas de material.
- Se retira la jeringuilla y se procede a

realizar los frotis con la técnica apropiada.

- Se conecta otra jeringuilla y se aspira el material medular en cantidad suficiente para el estudio.
- Se retira la aguja.
- Finalmente proteja adecuadamente el sitio de punción.

Este material debe ser colocado en un frasco de hemocultivo, o ser procesado por lisis centrifugación. Vea capítulo XVI. Si se utiliza un sistema automatizado, se coloca en los respectivos medios incluido para hongos. Además de las siembras, realice los frotis para las distintas tinciones (Gram, Ziehl Neelsen, Giemsa, etc).

También se puede realizar una biopsia (extracción de hueso) que servirá para patología, este tipo de biopsia permite la recuperación de micobacterias y hongos y supera al mielocultivo. La técnica es descrita a continuación.

BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA

La médula ósea tiene varios sitios de abordaje, los huesos esponjosos principalmente; los preferidos son: crestas ilíacas, vértebras, meseta tibial, costillas y esternón¹². Previamente al procedimiento, el paciente recibirá una explicación del mismo, los riesgos y ventajas y deberá firmar una autorización al médico para la realización del procedimiento de acuerdo a las regulaciones de cada hospital.

MATERIALES

- Una aguja de Jamshidi.
- Portaobjetos (entre seis a diez) perfec-

tamente limpios.

- Dos jeringuillas de 10 cc.
- Medio apropiado para el estudio: solución fisiológica estéril, o medio de transporte para el estudio microbiológico y otra porción en formaldehído para patología
- Gasa estéril.
- Xilocaína o Lidocaína.
- Solución de povidona yodada u otro material desinfectante.
- Guantes estériles.
- Campo quirúrgico.
- De ser posible bata, mascarilla y gorro quirúrgicos, dependiendo del propósito del estudio y el tipo de paciente.

PROCEDIMIENTO

- El paciente estará acostado cómodamente en un lecho plano con los muslos flexionados, el tórax y cuello rectos.
- Escogido el sitio de la punción biopsia, la cresta iliaca se localiza siguiendo la línea medio-vertebral hasta una intersección con la línea iliaca, tres a cuatro centímetros por debajo y hacia fuera de este ángulo imaginario se localiza la cresta iliaca.
- Se desinfecta perfectamente con un antiséptico, con movimientos circulares desde el centro hacia fuera.
- Luego se infiltra la anestesia local con Lidocaína o Xilocaína desde la piel hasta periostio.
- Una vez anestesiado el sitio se hace una mínima incisión con bisturí.
- Por el ojal cutáneo se introduce la aguja hasta periostio en donde con fuerza y con movimientos semigratorios se introduce en la esponjosa unos milímetros; en este sitio se saca el mandril y



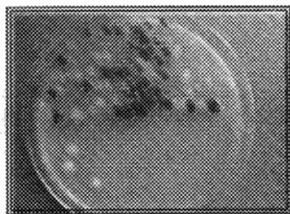
continuar con la introducción en la esponjosa hasta un centímetro aproximadamente.

- Cuando está la aguja en la esponjosa se hacen movimientos giratorios con fuerza hacia fuera para obtener el cilindro óseo.
- Finalmente proteja adecuadamente el sitio de punción. Una vez retirado el

instrumento se introduce el estilete y se libera el cilindro óseo y se deposita en el medio adecuado para el estudio. Coloque el cilindro de hueso en una solución salina estéril para enviar al laboratorio de microbiología, donde se procederá a la trituración para la realización de improntas y de los cultivos respectivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Isenberg, H. 1992. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
2. Mandell, G., J. Bennett, and R. Dolin. 2000. *Principles and practice of infectious diseases*, 5th ed. Churchill Livingstone, New York.
3. Miller, J.L. 1996. *A guide to specimen management in clinical microbiology*. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
4. Murray, P.R. 1998. *Pocket guide to clinical microbiology*. 2nd ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
5. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
6. Loebl, E.C., Marvin, J.A., Heck, E.L., et al. The method of quantitative burn wound biopsy cultures and its routine use in the care of the burned patient. *Am. J. Clin. Pathol.* 1974;61:20
7. Isenberg HD, D'Amato RF. Indigenous and pathogenic microorganisms of humans. En: Balows A., Hausler WJ, Jr., Herrmann KL, et al. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. American Society for Microbiology. 1991;2-14
8. Wilson W.R.C, CT Dolan, JA Washington II., et al. Clinical significance of postmortem cultures. *Arch Pathol* 1972; 94:244
9. Koneman EW., TM Minckler DB Shires and DS. deJongh. Postmortem bacteriology. II. Selection of cases for culture. *Am. J. Clin Pathol* 1971;55:17-33
10. Dolan CT, Brown AL, and RE Ritts Jr. Microbiological examination of postmortem tissues. *Arch Pathol.* 1971;92:206-211
11. Platt W. Atlas de Hematología en color. Editorial Jims. 1982. Pag 12-21. Métodos para obtener médula osea. Barcelona
12. Buskard, N.A. and Gray G.R. Bone marrow biopsy. Experience with a new bone marrow biopsy needle (Jamshidi). Abst No 183. Program Booklet Am Soc Hematol. 1973



VI. EFUSIONES



LÍQUIDO PERITONEAL

La superficie peritoneal en un individuo sano se encuentra lubricada por una pequeña cantidad de líquido, éste en condiciones normales es de alrededor de 50 ml y puede contener alrededor de 300 leucocitos por milímetro cúbico, con cantidades muy pequeñas de proteínas. Este líquido es un ultrafiltrado del plasma y depende de la permeabilidad vascular y presiones oncóticas e hidrostáticas. Si se presenta un proceso infeccioso o inflamatorio este líquido peritoneal aumenta y se va acumulando en la cavidad peritoneal, es lo que se denomina líquido ascítico y el paciente tiene ascitis. Hay un sinnúmero de causas de producción de una efusión peritoneal, sean éstas infecciosas o no. Dentro de las no infecciosas están la falla cardíaca congestiva, la cirrosis hepática, hipoproteínea, neoplasias, metástasis, y traumas. Las causas infecciosas son básicamente la tuberculosis, la peritonitis primaria bacteriana y la peritonitis secundaria. En oca-

siones puede presentarse una efusión quílosa que es producida por la obstrucción del ducto torácico ocasionada por trauma, linfoma, carcinoma, tuberculosis e infestaciones parasitarias.

Cuando las bacterias intestinales llegan al líquido peritoneal ya sea a través de una perforación del intestino o una infección de una víscera abdominal (hígado, páncreas, bazo, estómago, vejiga, trompas de Falopio y ovarios), o a través de vía sanguínea o por inoculación externa (cirugía o trauma), se produce una infección de líquido peritoneal, ocasionando peritonitis. Esta puede ser primaria o secundaria. En una peritonitis primaria al parecer no hay un foco infeccioso evidente y es causada por la migración de las bacterias desde el intestino hacia el líquido ascítico¹. Los microorganismos implicados en este tipo de peritonitis se encuentran en la tabla VI-1. En cambio en la peritonitis secundaria la fuente de infección es conocida.

Tabla VI-1

Causas de Peritonitis primaria*

NIÑOS	ADULTOS
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Enterobacterias	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Otros bacilos Gram negativos	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Haemophilus</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	<i>Candida sp.</i>

* La peritonitis poli-microbiana es infrecuente en ausencia de perforación o ruptura del intestino.

Como la peritonitis secundaria es consecuencia de una perforación, los agentes etiológicos implicados serán principalmente anaerobios, como el grupo *Bacteroides fragilis*, *Bilophila sp.*, *Clostridium sp.* y cocos anaerobios, asociados a Enterobacterias (*E. coli* en primer lugar) y enterococos u otros estreptococos. El *Staphylococcus aureus*, es un hallazgo excepcional sin embargo puede ser aislado cuando la flora intestinal del paciente ha sido alterada por la acción de una terapia antimicrobiana².

TOMA DE LA MUESTRA

El líquido peritoneal puede ser recolectado a través de:

1. Paracentesis
2. Lavado peritoneal diagnóstico
3. Lavado peritoneal quirúrgico

La paracentesis es una punción en la cavidad abdominal para obtener líquido; debe ser realizada por personal con experiencia (cirujano, imagenólogo intervencionista, gastroenterólogo, ginecólogo, etc.) Como es un método invasivo, la toma de la muestra debe ser en forma estéril. Y naturalmente la punción se efectúa únicamente cuando se tiene la certeza que el paciente tiene ascitis (signo de la ola y aumento del perímetro abdominal), o hay un cambio en el cuadro de un paciente con ascitis como una acumulación rápida de líquido o si el paciente con ascitis presenta fiebre.

Otra forma de toma de la muestra es **el lavado peritoneal diagnóstico**

que esta encaminado a la evaluación de trauma, es un procedimiento que cada vez más. Está siendo desplazado por la tomografía, el ultrasonido o por una laparoscopia diagnóstica. Otra aplicación del lavado peritoneal diagnóstico es la evaluación de pacientes con sospecha de pancreatitis o peritonitis aguda³.

La toma de muestra del **lavado peritoneal quirúrgico** se lleva a cabo durante la cirugía a través de aspiración directa con una jeringuilla. No envía hisopados de líquido peritoneal.

Pruebas de laboratorio a realizarse en un líquido peritoneal:

Examen físico: color, olor, aspecto, presencia de material extraño

Recuento de leucocitos

Recuento de glóbulos rojos (lavado diagnóstico)

Glucosa

Proteínas (albúmina)

Deshidrogenasa láctica

Fosfatasa alcalina*

Colesterol*

Amilasa*

Marcadores tumorales*

Inmunocitología*

Examen microscópico: Citología, tinciones Gram, Ziehl Neelsen, Giemsa para recuento diferencial (vea tabla VI-2)

Cultivos

* en casos especiales

PARACENTESIS

1. Explique al paciente en qué consiste el procedimiento.
2. El paciente debe evacuar la vejiga (por micción espontánea o por sondaje).
3. Coloque al paciente en decúbito dorsal, en posición semi-Fowler y ligeramente lateral hacia el lado izquierdo, de tal manera que se pueda visualizar toda la región abdominal.
4. Colóquese la bata y guantes estériles.
5. Prepare el sitio de la punción o incisión.
6. Realice la asepsia en el cuadrante inferior izquierdo con jabón líquido, alcohol y luego con povidona yodada.
7. Identifique el sitio de la punción mediante percusión o con la ayuda de ultrasonido.
8. Coloque los campos estériles.
9. Infiltre con Xilocaína al 2% o con epinefrina en el sitio de la punción.
10. Puncione tomando como referencia el ombligo y la sínfisis del pubis, en la mitad de estos dos puntos, en forma perpendicular.
11. Coloque a una jeringa de 10 ml una aguja o Angiocath, al mismo tiempo que punciona se aspira hasta obtener líquido. Fijar el Angiocath con técnica estéril.
12. Una vez concluido el procedimiento se retira la aguja haciendo compresión, durante 3 a 5 minutos para evitar el sangrado.
13. Rotule la muestra y envíe al laboratorio con información del paciente, no olvide indicar la hora de la toma y la sospecha diagnóstica. La muestra no debe ser refrigerada y debe ir lo más rápido posible al laboratorio.

Coloque 10 ml en una botella de hemocultivo para aerobios y otro para anaerobios inmediatamente después de la recolección, es decir que la inoculación en los frascos se debe realizar en la cabecera del paciente, pues cualquier demora en la siembra disminuye la capacidad de recuperación de los microorganismos⁴. Si se sospecha de clamidia, gonococo u otro agente, una muestra adicional debe ser enviada para la búsqueda de estos patógenos. Un mínimo de 30 ml se requiere para hacer un estudio completo. Si es posible se puede enviar 100 ml para un estudio citológico. Las muestras deben ser enviadas en tubos con EDTA (tubos tapa lila) para evitar la coagulación, estos irán al laboratorio para estudios bioquímicos, enzimáticos, citológicos. 10 ml pueden ser suficientes, pero si el líquido es transparente o sanguinolento envíe una mayor cantidad. Centrifuge a 1500 g x 15 minutos y procesar el sedimento.

La paracentesis⁵ es un procedimiento que se considera poco morbido, con un porcentaje de complicaciones alrededor de 1 a 3%, siendo las más frecuentes: sangrado en el sitio de la punción, sangrado intraabdominal, neumoperitoneo, perforación de una víscera hueca, infección y fistula del líquido ascítico al exterior⁶.

TOMA DE LA MUESTRA PARA LAVADO PERITONEAL DIAGNÓSTICO

Prepare el sitio de la punción o incisión. El paciente debe estar en una posición sentada. El cirujano realiza la punción de la piel 3 a 5 cm debajo del ombligo en la línea media e introduce un catéter de diálisis hasta alcanzar el saco de Dou-

Tabla VI-2

Sensibilidad de las pruebas microbiológicas utilizadas para el diagnóstico de peritonitis

PRUEBA MICROBIOLÓGICA	SENSIBILIDAD
Coloración de Gram:	
Peritonitis bacteriana primaria ⁷	25-50%
Peritonitis ⁸	90%
Cultivo bacteriano del líquido peritoneal ⁹	50%
Coloración Ziehl Neelsen	
BAAR de líquido peritoneal	20-30%
Cultivos para <i>Mycobacterium</i> ¹⁰	50-70%

glas. Este procedimiento puede ser guiado por ultrasonido. Cuando la aspiración revela líquido francamente hemorrágico o con contenido intestinal se debe realizar una laparotomía. Si no se presentan estas condiciones se procede a lavar con 1 litro de solución salina y se recupera el líquido a través de drenaje por gravedad. Al menos 600 ml deben ser recuperados para evitar recuentos falsos.

LÍQUIDO PERITONEAL DE DIÁLISIS

La diálisis es un procedimiento que permite corregir las consecuencias de riñones afuncionales, como en la insuficiencia renal aguda o crónica. La diálisis está indicada en los pacientes con inestabilidad hemodinámica, con enfermedad cardiovascular grave o en individuos con acceso vascular difícil (diabéticos), hemorragia activa, o ambas condiciones.

Este líquido peritoneal de diálisis es un fluido que ha sido introducido en la cavidad peritoneal y posteriormente removido, lo cual permite el intercambio de sa-

les y agua y remover los desechos que no logran eliminar los riñones que no funcionan. La peritonitis aguda es la complicación más frecuente de la diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA). El promedio de peritonitis en este tipo de pacientes es más de 2 episodios por año por paciente; es una peritonitis menos grave que otros tipos y la mortalidad asociada es rara. La sospecha de peritonitis se realiza por la presencia de un líquido turbio con o sin dolor abdominal. Los recuentos de leucocitos en este tipo de fluidos es muy alto, generalmente mayor de 100 por ml, y más de 50% de neutrófilos, pero el número de bacterias es generalmente muy bajo, para ser detectadas por una coloración de Gram, por lo que se debe realizar una centrifugación del líquido y sembrar el sedimento. Los hongos son más fáciles de ser detectados¹¹.

La mayoría de los microorganismos aislados son de la propia flora del paciente, así encontraremos *S. epidermidis* (30-40%), *S. aureus* (10 a 20%), seguidos por estreptococos (5-10%); bacilos gram negativos sobretudo *Pseudomonas*, *Ac-*

netobacter y enterobacterias, (5-10%) y en menor proporción *Candida*, (1-10%) y *Corynebacterium sp.* (1-5%) Se sugiere no realizar cultivos para anaerobios debido a que el contenido de oxígeno en el dializado peritoneal es tan alto que no permite el desarrollo de este tipo de flora. *Mycobacterium* es otro microorganismo muy raro en pacientes con DPCA, pero se debe sospechar cuando hay un predominio de linfocitos¹².

Causas de cultivo negativo de líquido peritoneal del DPCA:

- Toma o procesamiento inadecuado de la muestra.
- Uso previo de antimicrobianos por vía intraperitoneal.
- Incubación de las cajas menor a 7 días.

El líquido debe ser enviado en un frasco estéril (los recolectores para orina son apropiados). La cantidad debe ser mayor a 10 ml, no menos, pues el número de bacterias es tan bajo que se necesitan procesar grandes cantidades de fluido¹³. Por eso también se puede aceptar la funda de recambio. Un estudio realizado por Dawson en 1985 demostró que es mejor cultivar todo el líquido de la funda de recambio que pequeñas cantidades, para el diagnóstico de peritonitis en pacientes en diálisis peritoneal¹⁴.

Hay varios métodos para procesar este tipo de fluidos, éstos se encuentran en la tabla VI-3.

Si se utilizó una membrana ésta debe ser

cortada en forma aséptica y cada segmento debe ser colocado en el agar respectivo. Hay ocasiones en que no se logra la recuperación de microorganismo alguno, lo que se denomina peritonitis estéril, su incidencia es del 5 al 20%.

Tabla VI-3

Formas sugeridas para la siembra de líquido de diálisis peritoneal

1. Coloque 10 ml de líquido en un frasco de hemocultivo y procesarlo como tal. Se recomienda colocar 10 ml en dos botellas (20 ml).
2. Centrifugue el líquido (50 ml) y sembrar el sedimento.
3. Mediante lisis centrifugación.
4. Filtración a través de un filtro Millipore de 0,45 μ m.

LÍQUIDO AMNIÓTICO

El líquido amniótico normal tiene factores de inhibición del crecimiento bacteriano. Sin embargo la amnionitis puede presentarse en rotura prematura de membranas, presencia de meconio o inoculación masiva del líquido. La frecuencia de infección del líquido amniótico aumenta luego de 8 horas de rotura de membranas.

El líquido es obtenido por el gineco-observador por vía transabdominal dirigido por ecografía. Se coloca el líquido en una botella de hemocultivo aerobio y otra para anaerobio, no necesita centrifugación para realizar una coloración de Gram¹⁵. Esta tinción detecta aproximadamente la mitad de las infecciones bacterianas y descarta la infección con una seguridad del 95%. Debe ser enviado a temperatura ambiente lo más rápido po-

sible. Esta es una muestra que se considera como prioridad "urgente", es decir que un informe preliminar de la coloración de Gram debe ser reportado dentro de 30 minutos a 1 hora al médico tratante, independientemente de la sala en que esté hospitalizada la paciente y el informe preliminar del crecimiento del microorganismo debe ser reportado vía telefónica lo más rápido posible¹⁶.

LÍQUIDO PERICÁRDICO

El líquido pericárdico se encuentra en mínima cantidad en el espacio pericárdico (15 a 20 ml), es claro de color amarillo pálido. El pericardio es el tejido que rodea al corazón y los grandes vasos y cuando se presenta un proceso infeccioso el pericardio puede distenderse y apretar al corazón lo que interfiere la función cardíaca y la circulación lo que se denomina *tamponade*. Los agentes que producen inflamación del pericardio (pericarditis) son generalmente virus, enterovirus, principalmente coxsackievirus A y B. Echovirus, adenovirus, virus de la influenzae y otros. Los parásitos como *Toxoplasma gondii* y *Entamoeba histolytica*. bacterias como *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, enterobacterias y otros bacilos Gram negativos y ciertos hongos como *Coccidioides immitis*, *Aspergillus sp*, *Candida sp*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* y otras causas no infecciosas pueden también estar involucradas.

Esta es una muestra que se considera como prioridad "urgente", es decir que un informe preliminar de la coloración de

Gram debe ser reportado dentro de 30 minutos a 1 hora al médico tratante. Vea tabla VI-4.

El líquido pericárdico puede estar aumentado debido a infecciones, neoplasias, infarto del miocardio, hemorragia (traumatismos, anticoagulantes, extravasación de aneurisma aórtico), o causas metabólicas y reumatológicas.

TOMA DE LA MUESTRA

La toma de muestra se realiza mediante la pericardiocentesis y es indispensable la monitorización electrocardiográfica durante el procedimiento¹⁷. Esta técnica se lleva a cabo con fines terapéutico y diagnóstico. Se realiza a través de aspiración o por biopsia. El procedimiento será guiado con el ecocardiograma.

1. Coloque al paciente en posición de Fowler
2. El médico se viste con bata y guantes estériles
3. Realice asepsia quirúrgica en el paciente en un área extensa que cubra toda la cara anterior del tórax a partir del apéndice xifoideas.
4. Cubra con campos estériles
5. El anestésico xilocaína al 2% se infiltrará en un punto a 1 a 2 cm por fuera y a la izquierda del apéndice xifoideas, inicialmente en la piel y el tejido celular subcutáneo dirigiéndose en un trayecto subxifoideo hasta llegar al arco costal. Retire cuidadosamente la aguja sin dejar de aspirar.
6. La aguja que se utiliza para la punción viene incluida como parte del catéter subclavio. Esta se conecta a las derivaciones precordiales del

electrocardiógrafo por medio de un caimán y luego se inserta en el punto anestesiado, siguiendo el mismo trayecto hasta alcanzar al arco costal. Al llegar a este punto la aguja se dirige hacia el centro del tórax con una angulación de 45 grados y avance hacia el hombro izquierdo sin dejar de aspirar.

7. No deje de observar continuamente el trazo electrocardiográfico. Esto nos permitirá observar la elevación del segmento ST, que indica que hubo punción epicárdica y si hay una elevación del segmento PR indica que se ha puncionado la aurícula. En ambos casos debe retirarse la aguja.
8. Si no se obtiene líquido, dirija la aguja hacia el hombro derecho con las misma angulación de 45 grados
9. En adultos, la distancia promedio de la piel al epicardio es de 8 cm por lo tanto no introduzca la aguja más de 8 cm.
10. Una vez que obtenga el líquido retire la aguja y a través de la camisa se introduce el catéter y se conecta a una llave de tres vías adaptada a una jeringa de 50 ml.
11. Aspire suficiente líquido para enviar las muestras para cada uno de los exámenes requeridos.
12. Una vez efectuado el drenaje se retira el catéter y se sella el sitio de la punción con gasa estéril y Micropore™.
13. Vigile al paciente hemodinámicamente por un período de dos horas, con monitoreo electrocardiográfico continuo.

descrito como las más frecuentes: reacción vagal (bradicardia, hipotensión, náuseas, vómitos, etc.), la punción ventricular y las arritmias y entre las menos frecuentes están: laceración de las coronarias, punción del esófago, mediastino, estómago o del colon y el taponamiento cardíaco por punción cavitaria.

En el caso de la punción ventricular se extrae el contenido de la jeringa y si la sangre se coagula significa que se ha puncionado la cavidad y se debe retirar la aguja. Las arritmias que se presentan suelen terminar cuando se retira la aguja o cuando se concluye el procedimiento. Por lo tanto es indispensable la monitorización electrocardiográfica permanente del procedimiento.

PERICARDIOPLASTIA PERCUTÁNEA

Está indicada cuando hay una reaccumulación de líquido pericárdico, que sobrepasa los 100 ml en 24 horas. O en el caso de pacientes con derrame secundario a neoplasias¹⁸.

El líquido pericárdico debe ser tomado en frasco estéril con la solicitud respectiva de qué se desea investigar.

Al líquido pericárdico se realiza un examen macroscópico y microscópico. El análisis químico consiste en dosificación de proteínas, glucosa, pH y lípidos.

Para la toma de muestra de líquido pleural refiérase al capítulo III y para el líquido cefalorraquídeo al capítulo VII.

Las complicaciones de una pericardioplastia oscilan entre el 7 y 55%. Se han

Tabla VI-4

Sensibilidad de las pruebas microbiológicas utilizadas para el diagnóstico de pericarditis bacteriana

PRUEBA MICROBIOLÓGICA	SENSIBILIDAD
Coloración de Gram:	50-80%
Coloración Ziehl Neelsen	50%
Cultivos de líquido pericárdico	50-80%
Cultivos para <i>Mycobacterium</i>	50%
Cultivo de tejido de pericardiectomía (Tb)	>90%

BIBLIOGRAFÍA

1. Stassen WN, McCullough AJ, Bacon BR, et al. Immediate diagnostic criteria for bacterial infection of ascitic fluid. *Gastroenterology* 1986; 90:1247
2. Runyon BA, Hoefs JC, Morgan TR. Ascitic fluid analysis the differentiation of spontaneous bacterial peritonitis from gastrointestinal tract perforation into ascitic fluid. *Hepatology* 1984;4:447
3. Feied CF. Diagnostic peritoneal lavage. *Postgrad Med* 1989;85:40
4. Runyon, B.A., Umland, E.T. and Merlin T. Inoculation of blood culture bottles with ascitic fluid. *Arch. Intern. Med.* 1987;147:73
5. Glauser J. Abdominal paracentesis. En: Roberts JR, Hedges JR (eds). *Clinical procedures in emergency medicine*. Philadelphia: WB Saunders, 1985:569-574
6. Runyon, BA. Paracentesis of ascitis fluid: A safe procedure. *Arch Int Med.* 1986;146:2259-2261
7. Marshall JB. Finding the cause of ascites. The importance of accurate fluid analysis. *Postgrad Med* 1988;83:189
8. Lee HH, Carlson RW, Bull DM. Early diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis: Values of ascitic fluid variables. *Infection* 1987;15:232
9. Castellote J, Xiol X, Veraguer R. et al. Comparison of two ascitic fluid culture methods in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85:1605
10. Reimer LG: Approach to the analysis of body fluids for the detection of infection *Clin Lab Med* 1985; 5:209
11. Bren A. Fungal peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:839-43.
12. Buggy BP. Culture methods for continuous ambulatory peritoneal dialysis-associated peritonitis. *Clini. Microbiol. Newsl.* 1986; 8:12
13. Males BM, Walshe JJ, y Amsterdam F. Laboratory indices of clinical peritonitis: total leukocyte count, microscopy and microbiologic culture of peritoneal dialysys effluent. *J. Clin Micro-*

- biol. 1987;25: 2367
14. Dawson MS, Hardford AM, Garner BK, et al. Total volume culture technique for the isolation of microorganisms from continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with peritonitis. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 22:391
15. Romero R, Emamian M, Quintero R. Et al The value and limitations of the Gram stain examination in the diagnosis of intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159: 114
16. Van Enk R.A., and Thompson K.D. Microbiologic analysis of amniotic fluid. *Clin Microbiol Newsl.* 1990;12:169-172
17. American College of Surgeons. Pericardiocentesis. Advanced trauma life support, student manual. American College of Surgeons. 1993;139-140
18. Gentilello LM, Little AG. Pericardial window and pericardiocentesis. En: Holl JB, Schmidt GA, Wood LDH (eds). *Principles of critical care*. New York: McGraw-Hill, 1992:361-365



VII. INFECCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL



Las infecciones del Sistema Nervioso Central (SNC) son: meningitis, abscesos cerebrales, abscesos epidurales, encefalitis, flebitis supurativas intracraneales y las infecciones relacionadas al catéter de derivación.

La meningitis es una inflamación de las membranas que recubren el cerebro, cerebelo y médula ósea, sitios anatómicos circundados por el espacio subaracnoideo, por donde circula el líquido cefalorraquídeo (LCR). Puede ser ocasionada por una

gran variedad de agentes: bacterias, micobacterias, espiroquetas, virus, hongos y parásitos. La meningitis puede ser aguda y crónica. La primera es una infección que requiere inmediata intervención médica y es considerada como urgente dentro de las pruebas del laboratorio; la segunda se manifiesta con síntomas neurológicos que persisten o progresan por lo menos 4 semanas. Los agentes frecuentemente implicados en meningitis aguda y crónica se encuentran en la tabla VII-1.

Tabla VII-1

Causas frecuentes de meningitis

MENINGITIS AGUDA CON PREDOMINIO DE NEUTROFILOS EN LCR	MENINGITIS AGUDA "ASEPTICA" (Inicio con predominio neutrofílico y luego predominio linfocítico en LCR) ^{a, b, c, d, e, f, g}	MENINGITIS CRÓNICA PREDOMINIO DE LINFOCITOS EN LCR ^{h, i, j, k, l, m}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Enterovirus: Echovirus y Coxsackievirus	<i>Nocardia asteroides</i> ^h
<i>Neisseria meningitidis</i>	Rubulavirus: Virus de las paperas	<i>Brucella</i> sp
<i>Listeria monocytogenes</i>	Herpes virus 1 y 2	<i>Leptospira interrogans</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Virus de la coriomeningitis linfocítica	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ^h
<i>Haemophilus influenzae</i>	Virus Varicella-zoster	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Citomegalovirus ^g	<i>Borrelia burgdorferi</i>
Bacilos Gram negativos	Virus Epstein-Barr	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Bacterias anaerobias	Adenovirus	<i>Candida</i> sp
<i>Amoeba (Naegleria y Acanthamoeba sp)</i> ^l	Virus Parainfluenzae tipo 2 y 3	<i>Coccidioides immitis</i>
	Arbovirus	<i>Histoplasma capsulatum</i>
	Virus del sarampión	<i>Blastomyces dermatitidis</i> ^h
		<i>Taenia solium</i> (cisticercosis)
		<i>Equinococcus granulosus</i>
		<i>Toxoplasma gondii</i>
		<i>Trichinella spiralis</i>
		<i>Angiostrongylus</i> sp

^a Pueden presentarse con neutrofilia persistente.

^b Al inicio de la enfermedad puede debutar con neutrofilia

^c Podría haber predominio de eosinófilos

En la meningitis, el papel del microbiólogo es decisivo en la conducta a tomar por el médico tratante, quien será el encargado de instaurar la terapéutica con los datos aportados a la brevedad posible. La eficacia del tratamiento de la infección de SNC depende de la exactitud en el diagnóstico etiológico, pues es una infección severa que produce alta morbi-mortalidad. La etiología predominante es de origen bacteriano (85-90%) y los patógenos más frecuentes son *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*. Los agentes etiológicos varían de acuerdo a la edad, raza y sexo¹. En los países donde se ha instaurado la vacunación contra *Haemophilus*, la meningitis por este agente ha declinado significativamente². La meningitis en el neonato³ es causada por *Enterobacteriaceas*, *Streptococcus agalactiae*, y *Listeria*. En algunos países de América Latina, la *Salmonella* es también causa de meningitis⁴. Los agentes etiológicos de la meningitis en el paciente mayor de 16 años son *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* y *Listeria monocytogenes*.⁵

En el caso de Enterovirus, un cultivo celular de la lesión y una dosificación de anticuerpos en el suero pueden ser útiles ocasionalmente. En el caso de sospecha de virus de las paperas está indicado el cultivo celular o la determinación de inmunoglobulina M y G en el suero. Para Herpes solicite una titulación de anticuerpos en suero. Para el resto de los agentes virales que ocasionan meningitis aguda están disponibles pruebas de biología molecular como una PCR en el LCR, o cultivos virales, pero que por el momento son accesibles en su mayoría, únicamente en centros de referencia^{17,18}.

Para el diagnóstico de *Leptospira* examine el LCR con campo oscuro, realice cultivo o titulaciones en suero. Para *Mycobacterium* es útil PCR¹⁹, para *Treponema* una titulación de anticuerpos en suero y LCR, y para el diagnóstico de *Borrelia burgdorferi* solicite anticuerpos y Western Blot.

Cuando se requiere investigar hongos, se utilizan pruebas como detección de antígeno de *Cryptococcus neoformans* o la prueba de tinta china. Para *Candida* y otro tipo de hongos una coloración de Gram puede ser muy provechosa sobretodo para las infecciones de las derivaciones del LCR. La presencia de antígeno en LCR y orina para *Histoplasma* puede ser solicitada.

Para el diagnóstico de *Taenia* solicitar una observación microscópica del material de aspiración o la biopsia, titulación de anticuerpos en suero por inmunoblot. Para hidatidosis examine el quiste removido en el fluido cefalorraquídeo la presencia de escolex. Para *Toxoplasma* solicite una prueba de PCR en LCR y para Meningitis eosinofílica, en el caso de *Angiostrongylus* es de utilidad el examen microscópico del músculo para la larva y titulaciones de anticuerpos en suero.

La recuperación y detección del agente causal depende de varios factores relacionados con la obtención del LCR. Estos son:

- Cantidad adecuada.
- El tiempo apropiado.
- Transporte al laboratorio en condiciones óptimas.
- Procesamiento eficiente y a tiempo.
- Seleccionar las pruebas necesarias para identificar el espectro de las posibles etiologías.
- Independientemente de la solicitud es-

crita, es beneficiosa una comunicación entre el clínico y el microbiólogo.

- Conocimiento del estado inmunológico del paciente, la sospecha clínica y factores predisponentes.
- Si es posible, todas las muestras deben ser recolectadas antes de la iniciación de la antibioticoterapia.

Si el paciente ha recibido antibióticos se pueden recolectar grandes volúmenes de LCR o del material purulento del absceso y colocarlos en una botella de hemocultivo que contengan resinas que inhiben la acción de los antimicrobianos (Sistema BACTEC, Sistema Rapid-Alert Organon Teknika).

PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE LCR

Inserte la aguja con el estilete a nivel del espacio subaracnoideo a nivel lumbar que puede ser L3-L4 o L4-L5 o L5-S1 de forma aséptica.

Cuando la aguja alcance el espacio subaracnoideo. Retire el estilete y extraiga 1 a 2 ml de LCR y coloque en tres tubos estériles de tapa rosca. La cantidad de LCR de-

penderá de lo que se desee investigar (Vea recuadro abajo). El tubo No1 para microbiología el No2 para bioquímica y el No3 para recuentos celulares. Actualmente se considera que el estudio microbiológico puede realizarse de cualquier tubo. Teóricamente el tubo 1 (o inicial) tiene mayor probabilidad de contaminarse con epitelio o sangre de la piel o tejido de los capilares que se rompen durante la punción, en la práctica el volumen total de LCR cultivado es más importante que la siembra de un tubo en especial. Si por algún motivo se recolectó la muestra en un solo tubo, éste debe ir inmediatamente a microbiología para allí poder retirar de forma aséptica el volumen de muestra necesario para cultivos y luego enviarse el resto para los estudios bioquímicos y citológicos.

*La edad de los pacientes con meningitis es un dato crucial para dirigir la investigación microbiológica, por lo tanto **NO OLVIDE PONER LA EDAD** en la hoja de solicitud de la prueba. El diagnóstico del agente etiológico de una infección en el SNC, depende de la colaboración mutua entre el clínico y el microbiólogo.*

La cantidad de LCR requerida varía de acuerdo a lo que se desee investigar:

Bacterias:	> 1 ml
Hongos:	> 10 ml a 20 ml (mínimo 2 ml)
Micobacterias:	> 10 ml a 20 ml (mínimo 2 ml)
Virus:	> 1 ml
Pruebas de ADN (PCR):	1 ml
Pruebas serológicas:	1 ml

Indique en la hoja de solicitud la terapia antimicrobiana que ha recibido o está recibiendo el paciente, debido a que la esterilización del LCR puede suceder dentro de una hora de la terapia antibiótica para meningitis meningocócica y dentro de 4 horas para el neumococo. Por lo tanto en un paciente técnicamente accesible, hemodinámicamente estable y sin evidencia de edema cerebral o síntomas de herniación realice una punción lumbar, antes de la administración de antibióticos parenterales. Una coloración de Gram puede ser muy útil en el diagnóstico rápido y exacto de una meningitis bacteriana. Si el paciente no ha recibido antibióticos la sensibilidad del Gram es del 75% al 92%. Y puede caer al 40-60% si ha recibido antimicrobianos previamente. Falsos positivos pueden ocurrir en el 0.1% de los casos. La sensibilidad de la coloración de Gram, se encuentra en la tabla VII-2. En lactantes y niños menores, con meningitis bacteriana aguda el LCR llega a ser estéril en el 90 a 100% de los casos dentro de las 24 a 36

horas de haber recibido una terapia antimicrobiana adecuada. Sin embargo el recuento de leucocitos puede no variar²³.

El diagnóstico de meningitis a través de una coloración de Gram del LCR requiere de personal con gran entrenamiento. Generalmente el Gram de LCR es una prueba que se debe reportar inmediatamente, pero lamentablemente el personal de tecnología médica puede no ser el más experto, pues las muestras llegan en los horarios en que no están los más expertos sino el personal técnico, muchas veces responsables de todas las secciones del laboratorio, sobretodo en los turnos nocturnos o feriados. El reporte de un Gram de LCR requiere personal capacitado, y si el laboratorio no dispone de él es indispensable entonces, el entrenamiento de los residentes de Pediatría, Infectología, u otros residentes médicos; si las condiciones lo permiten, el personal de laboratorio de otras áreas ajenas a Microbiología, podrían también ser ca-

Tabla VII-2

Sensibilidad de la coloración de Gram y Ziehl Neelsen. para la identificación de los agentes causales de meningitis bacteriana.

MICROORGANISMO	SENSIBILIDAD
	COLORACIÓN DE GRAM
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	90%
<i>Haemophilus influenzae</i>	86%
<i>Neisseria meningitis</i>	75%
Bacilos Gram negativos	50%
<i>Listeria monocytogenes</i>	<50%
	COLORACIÓN ZIEHL NEELSEN*
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<10%

* Para la tinción Ziehl Neelsen se recomienda centrifugar de 3 a 10 ml de LCR, el sedimento debe ser colocado por gotas en un portaobjetos, esperar que sequen y seguir colocando más gotas conforme el sedimento se va secando de tal forma que se formen varias capas de sedimento. No es necesario realizar de rutina esta coloración a menos que esté presente una linfocitosis y el clínico solicite específicamente.

pacitados, aunque éste suele estar cargado de trabajo y no tienen el tiempo suficiente para revisar adecuadamente un frotis teñido de Gram.

TRANSPORTE DEL LCR

Para cultivo de bacterias envíe LCR a temperatura ambiente dentro de los 15 minutos de la toma. El LCR es hipotónico motivo por el cual los neutrófilos pueden lisarse. El recuento puede disminuir en un 32% después de 1 hora y en un 50% después de las dos horas de la extracción. NUNCA REFRIGERE EL LCR, (excepción para estudios de virus), manténgalo y transporte a temperatura del medio ambiente, o a 37°C. Los microorganismos como *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae* pueden perder su viabilidad en tiempos prolongados de almacenamiento o al ser refrigerados o congelados²⁴.

Para cultivo o estudio de virus envíelo dentro de los 15 minutos a 4°C. Se puede almacenar por 72 horas a 4°C o si se va a requerir mayor tiempo en la siembra se almacena a -70°C. El transporte debe hacerlo en una caja con unidades comerciales refrigerantes o en una caja de espumaflex con hielo seco. Para micobacterias y hongos proceda igual que para cultivo de bacterias²⁵.

Para el diagnóstico de tuberculosis meningea está indicado colocar el LCR en un caldo de cultivo (Botella de un equipo automatizado) de:

1. MGIT de Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, Md.
2. Organon teknika MB/Bact de Organon teknika Durham, N.C.
3. Sistema ESP (Irek Diagnostic Systems, Inc West Lake, Ohio).
4. BACTEC 9000 para *Mycobacterium*, o
5. BACTEC 460 para *Mycobacterium*, estos últimos de Becton Dickinson Diagnostic Instruments, Sparks, Md.

Estos sistemas han permitido que la detección del *Mycobacterium* sea posible en medios de 3 semanas.

Dado que en las meningitis bacterianas un tratamiento precoz marca la diferencia entre la curación y las secuelas graves o incluso la muerte, el diagnóstico rápido microbiológico de la meningitis es urgente. Este tipo de muestra se considera de prioridad urgente en Microbiología y la tinción Gram debe ser reportada vía telefónica en forma inmediata, al igual que cualquier diagnóstico temprano del cultivo. Los LCR no se siembran para anaerobios en forma rutinaria, únicamente bajo solicitud específica.

En todo LCR realice coloración de Gram, concomitantemente con cultivo, aún cuando el recuento leucocitario sea normal e independiente del predominio linfocitario. Esto es debido a que:

1. 10% de pacientes con meningitis bacteriana aguda presentan predominio linfocitario. Es más común en neonatos (bacilos Gram negativos) y en casos causados por **Listeria monocytogenes** (más del 30%)
2. Un 4% de todas las meningitis puede presentarse sin pleocitosis como es el caso de los prematuros (más del 15%) o de los lactantes de menores de 4 semanas (17% de casos)
3. Un 10% de las meningitis causadas por **N. meningitidis** pueden presentarse con LCR "normales"²⁶

ENCEFALITIS

La encefalitis, es un proceso inflamatorio del cerebro. Los agentes infecciosos son principalmente virus, pero también pueden estar implicados en menor proporción bacterias, hongos y parásitos. El estudio de LCR en estos casos es crucial. La pleocitosis en variable (10 a 2000 leucocitos/mm³) con predominio de linfocitos, sin embargo en fases iniciales puede no haber leucocitos, o puede haber predominio de neutrófilos²⁷. Por lo tanto una repetición a las 24 horas es necesaria²⁸.

Realice un examen directo del LCR para coloración de Gram, Ziehl Neelsen para BAAR, y tinta china y antígeno para *Cryptococcus*. Una preparación al fresco podría ser útil para la búsqueda de amebas de vida libre. Una tinción de Giemsa para tripanosomas u hongos. Todos estos microorganismo pueden ser cultivados en medios especiales y apropiados, sin embargo no es un procedimiento frecuente. Para una variedad de virus en especial herpes simplex^{29,30}, la detección de ácido nucleicos en LCR puede ser de ayuda.

ABSCEOS CEREBRALES

El absceso cerebral es una infección focal, intracerebral que empieza en un área localizada causando cerebritis y desarrolla hasta hacerse una colección de pus rodeada por una cápsula muy vascularizada. El manejo del absceso ha mejorado notablemente en las últimas décadas gracias a la tomografía axial computarizada (TAC), el uso del metronidazol, los cultivos para anaerobios y las nuevas técnicas quirúrgicas. El uso de TAC permite que el absceso

sea aspirado, lo que facilita enormemente el diagnóstico microbiológico y la terapéutica antimicrobiana³¹.

Si la tomografía muestra una única lesión y ésta es mayor de 2,5 cm en diámetro debe ser cortada y aspirada estereotácticamente; la muestra así obtenida debe ser enviada a los laboratorios de microbiología y patología. Si hay varios abscesos uno en fase de cerebritis (no puncionar estos debido a la hemorragia que puede ocasionar su punción) y otros menores de 2,5 cm aspire para diagnóstico e identificación del microorganismo a la lesión que presente mayor tamaño³².

Confirme si una muestra adicional fue enviada a patología para el estudio de hongos con plata metenamina o coloraciones de mucicarmín para los hongos filamentosos o técnicas de inmunohistoquímica (peroxidasa-antiperoxidasa) para toxoplasmosis, o inmunofluorescencia.

Qué hacer cuando se recibe material de un absceso cerebral ?

- Coloración Gram
- Cultivo de rutina para aerobios y anaerobios
- Cultivo para **Mycobacterium**
- Cultivo para hongos
- Tinción de Ziehl Neelsen modificada para **Nocardia spp.**
- Si es posible, siempre guardar una parte del material del absceso, para estudios que se soliciten posteriormente.

EMPIEMA SUBDURAL

El empiema subdural debe ser sospechado en cualquier paciente con signo meníngeo y déficit neurológico focal. Puede o no estar presente sinusitis u otitis. Para la

obtención de la muestra se realiza una craneotomía, el líquido del empiema debe ser enviado al laboratorio para una coloración Gram y para el cultivo en medio de transporte. También está indicado hemocultivos para aerobios y anaerobios³³.

Tabla VII-3

Muestras apropiadas para el diagnóstico de infecciones del sistema nervioso central

ENFERMEDAD	ESPÉCIMEN	CANTIDAD	TRANSPORTE	COMENTARIO
Meningitis	Líquido Cefalorraquídeo (LCR)	Mínimo 1 ml de LCR. 1 a 2 ml para PCR. 1 ml para pruebas serológicas	Temperatura ambiente. No refrigere el LCR pues pueden afectar a algunas bacterias y anaerobios. Refrigeración está indicada para estudios virales o moleculares si se va a tardar en procesar <24 hr o congelar -20°C para períodos más largos	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> y hongos requieren cantidades mayores obtenidas por varias punciones a 10 a 20 ml de LCR ventricular.
Abscesos cerebrales	Material purulento del absceso	0.5 a 1.0 ml por cada solicitud de cultivo. (bacteriano, micobacterias, hongos, etc)	Temperatura ambiente para períodos cortos (<1 hr). Refrigere si va a tardar más. No refrigere si se requiere investigación para anaerobios.	1 a 2 ml de material puede ser añadido a un frasco de hemocultivo con resina. No envíe hisopados (tórulas)
	Tejido	0.5 ml	Si se obtienen pedazos de tejido muy pequeños coloque en una gasa estéril húmeda para que puedan ser identificados o pegados a un cartón. Una porción puede servir para PCR	Triture el tejido si la sospecha son hongos. No envíe hisopados
Empiema subdural o absceso epidural ^a	Material purulento del absceso o fluido de irrigación ^b	0.5 a 1.0 ml por cada solicitud de cultivo. (bacteriano, micobacterias, hongos, etc)	Proceda como en los abscesos	Pequeñas cantidades de pus pueden ser diluidas con suero salino (proporción de 1:2) No envíe hisopados
Encefalitis	LCR	Mínimo 1 ml de LCR. 1 a 2 ml para pruebas moleculares (búsqueda de ácido nucleico). 1 a 2 ml para pruebas serológicas	Refrigeración está indicada para estudios virales o moleculares si se va a tardar en procesar <24 horas, Congelar -20°C para períodos más largos	El examen de LCR es esencial. También se pueden hacer estudios de anticuerpos en LCR
Infecciones del Sistema de Derivación del LCR	LCR	1 a 2.0 ml por cada solicitud de cultivo. (bacteriano, micobacterias, hongos, etc.)	Proceda como en los LCR	Es útil sembrar en un caldo de enriquecimiento (tioglicolato).

^a Reacción en cadena de la polimerasa

^b Los cambios en el LCR no son específicos y el peligro de una herniación transtentorial son contraindicaciones de una punción lumbar.

ABSCESO EPIDURAL

El absceso epidural es una infección localizada entre la capa externa de la meninge, la duramadre y el cráneo o columna vertebral. Dentro del cráneo la duramadre forma la capa interna del periosteum por lo que puede acompañarse de osteomielitis. Debido a que el LCR muestra valores no específicos y al peligro de una herniación transtentorial esta contraindicada la punción lumbar. Se pueden realizar hemocultivos para aerobios y anaerobios. El *Staphylococcus aureus* es el responsable en el 60 a 90% de los casos³⁴. También pueden estar involucrados otros microorganismos por lo que el absceso debe ser sembrado para aerobios, anaerobios, mycobacterium y hongos. No olvidar una búsqueda para *Ecchinococcus*³⁵.

Las muestras apropiadas para el diagnóstico de infecciones del SNC se encuentran en la tabla VII-3.

Si la muestra enviada al laboratorio es insuficiente, para la realización de varias determinaciones, se debe llamar al médico para que indique que prueba considera más relevante. Algunas veces puede requerirse cantidades mayores por lo que se puede obtener LCR ventricular.

Una coloración de Gram se puede hacer con 1 a 2 ml de LCR

INFECCIONES DE VÁLVULAS DE DERIVACIÓN Y OTROS DISPOSITIVOS

La colocación de una válvula de derivación tiene varias indicaciones clínicas, la más común es para el manejo de los pa-

cientes con hidrocefalia. Los neurocirujanos colocan para derivar el LCR ventricular a otros sitios del cuerpo. Estos sistemas cuentan con una porción proximal que se coloca en los ventrículos cerebrales y una porción distal que deriva el LCR al peritoneo, al corazón, pleura, vejiga, uréter, o a la yugular. Actualmente casi todos estos dispositivos de drenaje son ventrículo-yugular (atrial o VA) o ventrículo peritoneal (VP).

Otra segunda indicación importante es para la inserción de un dispositivo para monitoreo de presión intracraneal continua en pacientes que han sufrido una lesión cerebral y que tienen masas intracerebrales. Existen otros dispositivos como son los catéteres intraventriculares para la administración de agentes terapéuticos que no pueden atravesar la barrera hematoencefálica en el caso de infecciones o neoplasias.

La infección de estos sistemas de derivación puede ocurrir entre 1% al 10%³⁶ dependiendo de la edad del paciente, etiología de la hidrocefalia, la virulencia del microorganismo, tipo de la derivación implantada y la experiencia del neurocirujano. También se han considerado como factores desencadenantes el tiempo de la cirugía, número de personas en el equipo quirúrgico, la preparación de la piel y la calidad del material del dispositivo³⁷.

La mayoría de las infecciones son causadas por microorganismos que constituyen parte de la flora de la piel como *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* y *Propionibacterium*. También están involucrados estreptococos viridans, enterococos, *S. pyogenes*, corinebacterias. Menos frecuente-

mente *Haemophilus influenzae* y bacilos entéricos Gram negativos³⁸.

Los factores responsables para la infección del SNC debido a estos dispositivos o catéteres no están bien definidos, al parecer los microorganismos se implantan durante la cirugía en el caso de la derivación, pues la mayoría de las infecciones se presentan durante las primeras semanas después de la cirugía y los principales gérmenes son los de la flora de la piel. La manipulación del catéter por parte del personal al cuidado del paciente con monitoreo de la presión intracraneal, pues la irrigación del sistema es un factor de riesgo, que en igual forma permite la entrada de los microorganismos de la piel.

La punción del reservorio para la extracción del LCR es la mejor muestra, no se aconseja extraer LCR proveniente de una derivación externa porque puede estar colonizando el catéter y el resultado sería falso positivo, tampoco la punción lumbar porque al drenar el LCR hacia la cavidad atrial o peritoneal el LCR residual lumbar puede ser estéril y sería falso negativo. Para la punción se rasura el área del reservorio y el pelo restante debe ser retirado de la zona de punción. Limpie el cuero cabelludo con povidona yodada seguida de alcohol y luego secar. Utilice una aguja mariposa 21 o una aguja Huber y puncione el reservorio (o la válvula si no hay reservorio). Se debe registrar la presión abierta y cerrada con un manómetro. Pequeñas cantidades de LCR deben permitir que goteen en un recipiente estéril tapa rosca. NO ASPIRAR EL LCR. Si solamente se obtiene 1 ml de LCR enviar al laboratorio para coloración de Gram y cultivo. Si se puede extraer una cantidad mayor a 1

ml de LCR se procederá a realizar un citoquímico (recuento de células, fórmula diferencial, glucosa y proteínas). Los cultivos deben mantenerse por 7 días³⁹.

Debido a que los microorganismos considerados como contaminantes en una muestra obtenida por punción lumbar pueden ser patógenos graves en una infección de la válvula de derivación, *Staphylococcus epidermidis*, por ejemplo, el médico debe indicar en la solicitud del examen la procedencia del LCR, es decir debe escribir "LCR ventricular" y no simplemente "LCR".

Hay que tener cuidado con la interpretación del citoquímico pues un LCR con proteínas, glucosa y leucocitos normales puede presentarse en una infección de la válvula de derivación. En algunos casos suelen ser útiles los hemocultivos, sobretudo en pacientes con derivación VA y que no hayan recibido antibióticos⁴⁰.

El diagnóstico de una infección asociada con una válvula de derivación se hace en base al cultivo del LCR ventricular y no del sistema de derivación por sí mismo.

ANTIGENOS BACTERIANOS

El uso de los antígenos bacterianos para detectar en forma rápida al agente etiológico en el LCR, en otros tiempos muy solicitado está siendo por ahora cuestionado. Rara vez una prueba positiva logra un cambio en la conducta terapéutica inicial y no se justifica realizar una investigación de todos los antígenos⁴¹. También ha dis-

minuido su uso debido a la dramática reducción de casos de meningitis por *Haemophilus influenzae* después de la introducción de la vacuna². Hay dos situaciones en las que pudieran ser útiles estos antígenos:

1. LCR con alteraciones en la glucosa,

proteínas y recuentos celulares con coloración de Gram negativa.

2. LCR de pacientes que han recibido terapia previa y sus cultivos son negativos después de 24 a 48 horas de incubación.

BIBLIOGRAFIA

1. Schlech WF III, Ward JI, Band JD, et al. Bacterial meningitis in the United States 1978 through 1981. The National Bacterial Meningitis Surveillance Study. *JAMA*. 1985;253:1749-1754

2. Schuchat A, Robinson K, Wenger JD, et al. Bacterial meningitis in the United States in 1995. *N Engl J Med*. 1997; 337:970-976

3. Karan S. Purulent meningitis in the newborn. *Child's Nerv. Syst.* 1986; 2:26.

4. Zurita J., Naranjo A., Ontaneda S., et al. Meningitis bacteriana en la Infancia: Una versión de 357 casos en un período de 6 años en Quito. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 1995; 15 (3): 121-125.

5. Sigurdardottir B, Bjornsson OM, Jonsdottir KE, et al: Acute bacterial meningitis in adults. A 20-year overview. *Arch Intern Med*. 1997;157:425-430.

6. Connolly KJ, Hammer SM. The acute aseptic meningitis syndrome. *Infect Dis Clin North Am*. 1990;4:599-622

7. Wilfert CM, Lehrman SN. Enteroviruses and meningitis. *Pediatr Infect Dis* 1983;2:333-341

8. Atkins JT: HSV PCR for CNS infections: Pearls and pitfalls. *Pediatr Infect Dis J*. 1999;18:823.

9. Olsen LC, Beuscher EJ, Artenstein MS, et al. Herpesvirus infections of the human central nervous system. *N Engl J Med*. 1967;277:1271-1277

10. Echevarría JM, Martínez-Martín P, Tellaz A, et al. Aseptic meningitis due to varicella-zoster virus: Serum antibody levels and local synthesis of specific IgG, IgM, and IgA. *J Infect Dis*. 1987;155:959-967

11. Miller E, Goldacre M, Pugh S, et al. Risk of aseptic meningitis after measles, mumps, and rubella vaccine in UK children. *Lancet*. 1993;341:979-982

12. Harley WB, Lomis M, Haas DW: Marked polymorphonuclear pleocytosis due to blastomycotic meningitis: Case report and review. *Clin Infect Dis* 1994;18:816

13. Niu MT, Duma RJ, Meningitis due to protozoa and helminths. *Infect Dis Clin North Am*. 1990;4:809-841

14. Simon RP, Neurosyphilis. *Arch Neurol*. 1985;42:606-613

15. Pachner AR, Steere AC. The triad of neurologic manifestations of Lyme disease: Meningitis, cranial neuritis and radiculoneuritis. *Neurology*. 1985;35:47-53

16. Di Gregorio C, Rivasi R, Mongiardino N, et al. Acanthamoeba meningoencephalitis in a patient with acquired-immunodeficiency syndrome. *Arch Pathol Lab Med*. 1992;116:1363-1365

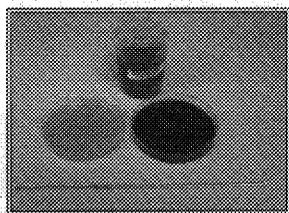
17. DeBiasi RL, Tyler KL: Polymerase chain reaction in the diagnosis and management of central nervous system infections. *Arch Neurol*. 1999; 56:1215.

18. Wildin SChonmaitree T. The importance of the virology laboratory in the diagnosis and management of viral meningitis. *Am J Dis Child*. 1987;141:454-457

19. Bonington A, Strang JI, Klapper PE, et al: Use of Roche AMPLICOR Mycobacterium tuberculosis PCR in early diagnosis of tuberculosis meningitis. *J Clin Microbiol*. 1998; 36:1251.



20. Sanchez-Portocarrero J, Perez-Cecilia E, Corral O, et al: The central nervous system and infection by *Candida* species. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000; 37:169.
21. Koo J, Pien F, Kliks MM. *Angiostrongylus* (*Parastrostrongylus*) eosinophilic meningitis. *Rev Infect Dis*. 1988;10:1155-1162
22. Kooiker JC. Spinal puncture and cerebrospinal fluid examination. In: Roberts JR, Hedges JR, eds. *Clinical Procedures in Emergency Medicine*. 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1998:1054-1077
23. Blazer S, Berant M, Alon U. Bacterial meningitis: Effect of antibiotic treatment on cerebrospinal fluid. *Am J Clin Pathol*. 1983;80:386-387
24. Gray LD, Fedorko DP: Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* . 1992;5:130-145
25. Greenlee JE: Approach to diagnosis of meningitis. Cerebrospinal fluid evaluation. *Infect Dis Clin North Am* 1990;4:583-597
26. Coll MT, Uriz MS, Pineda V, et al. Meningococcal meningitis with "normal" cerebrospinal fluid. *J Infect*. 1994;29:289-290
27. Johnson RT: Acute encephalitis. *Clin Infect Dis*. 1996; 23:219-
28. Feigin RD, Shackelford PG. Value of repeat lumbar puncture in the differential diagnosis of meningitis. *N Engl J Med*. 1973;289:571-574
29. Jeffery KJ, Read SJ, Peto TE, et al: Diagnosis of viral infections of the central nervous system: Clinical interpretation of PCR results. *Lancet*. 1997; 349:313.
30. Read SJ, Jeffery KJ, Bangham CR: Aseptic meningitis and encephalitis: The role of PCR in the diagnostic laboratory. *J Clin Microbiol*. 1997;35:691.
31. Maticen GE, Jonson JP. Brain abscess. *Clin Infect Dis*. 1997;25:763-781
32. Mamelak AN, Mampalam TJ, Obana WG, Rosenblum ML. Improved management of multiple brain abscesses: A combined surgical and medical approach. *Neurosurgery*. 1995; 36:76-86
33. Dill SR, Cobbs CG, McDonald CK: Subdural empyema: Analysis of 32 cases and review. *Clin Infect Dis*. 1995; 20:372.
34. Darouiche RO, Hamill RJ, Greenberg SB, et al: Bacterial spinal epidural abscess. Review of 43 cases and literature survey. *Medicine*. 1992;71:369.
35. Kaufman DM, Kaplan JG, Litman N. Infectious agents in spinal epidural abscesses. *Neurology*. 1980;30:844-850
36. Hanekom WA, Yogev R: Cerebrospinal fluid shunt infections. *Adv Pediatr Infect Dis*. 1996;11:29-
37. Renier DJ, Lacombe A, Pierre-Kahn C, et al. Factors causing acute shunt infection-computer analysis of 1.174 operations. *J Neurosurg*. 1984;61:1072-1078
38. Shapiro SJ, Boaz M, Kleiman J, et al. Origin of organism infecting ventricular shunts. *Neurosurgery*. 1988;22:868-872
39. Bisno A, Sternau L, Infections of Central Nervous System Shunts. En: *Infection Associated with Indwelling Medical Devices*. 2da ed. Ed. Alan L. Bisno y Francis A. Waldvogel. Washington DC. ASM. 1994; p91-109
40. Morissette I, Gourdeau M, Francoeur J: CSF shunt infections: A fifteen-year experience with emphasis on management and outcome. *Can J Neurol Sci*. 1993; 20:118-
41. Perkins MD, Mirrett S, Reller LB: Rapid bacterial antigen detection is not clinically useful. *J Clin Microbiol*. 1995; 33:1486-488



VIII. INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO



La infección del tracto urinario (ITU) es muy frecuente dentro del grupo de procesos infecciosos y constituye el principal motivo de las consultas en la atención primaria; se estima que la tasa anual de consultas al médico general es del 62,5 por 1000 casos¹. Una ITU se define como la presencia y multiplicación de bacterias en el tracto urinario con invasión de tejidos y suele manifestarse por la presencia de un gran número de bacterias en la orina. Afecta principalmente a la mujer, excepto en las edades extremas (primer año de vida y adulto mayor) épocas en las cuales, los varones suelen ser los más afectados². La presencia de bacterias en la orina se denomina **bacteriuria**, ésta es significativa cuando el crecimiento es superior a 10^5 unidades formadoras de colonias (ufc) de un microorganismo por mililitro de orina³ (número de Kass). Vea la figura VIII-1. El término **bacteriuria asintomática** se refiere a la presencia de una bacteriuria significativa sin síntomas. La ITU puede presentar diversos cuadros clínicos, dependiendo si están tomadas las vías urinarias altas o las bajas. Los diversos síndromes urinarios se encuentran en la tabla VIII-1.

Los microorganismos llegan al aparato urinario, ya sea por vía hematógica o por vía ascendente, es decir, por el paso de bacterias desde el extremo distal de la uretra hasta la vejiga, donde comienzan a multiplicarse. Este ascenso es más frecuente en la mujer que en el hombre, debido a que en ella, la uretra es mucho más corta y el orificio uretral está más cerca del ano que en el hombre⁸. La migración de bacterias hasta la vejiga se favorece por factores mecánicos, sobre todo por el masaje uretral que se produce durante la relación sexual⁹. La ITU por vía hematógica

representa una pequeña proporción de causas de pielonefritis en el ser humano.

La ITU no complicada es la infección más frecuente y se presenta principalmente en mujeres jóvenes, en este tipo de infección las bacterias, en su gran mayoría proceden del tracto intestinal, fundamentalmente *Escherichia coli*; las bacterias colonizan la vagina, el introito uretral y luego pasan a la vejiga donde se adhieren al epitelio vesical penetran con frecuencia tras pequeños traumatismos químicos, mecánicos o instrumentaciones vesicales. Los factores que alteren el flujo urinario también predisponen a la ITU, entre éstos están los que facilitan el ascenso bacteriano como: cateterismo uretrales, cirugía urológica y actividad sexual, así como los factores que aumentan la permanencia de la orina en la vejiga como: disminución de la ingesta de líquidos y de flujo urinario, prolongación en el tiempo entre las distintas micciones, obstrucción, estenosis uretral, valvas uretrales, adenomas protáticos, vejiga neurogénica, divertículos vesicales y reflujo uretral. Los riñones patológicos en especial cuando existe obstrucción uretral, son fácilmente colonizados por *E. coli*.



Figura VIII-1
Orina sombreada en un agar CLED. Con un recuento de colonias >100.000 ufc/ml de orina.

Tabla VIII-1

SÍNDROME URINARIO	CARACTERÍSTICAS	COMENTARIOS
Cistitis o infección de vías urinarias bajas ^a	Polaquiuria, tenesmo vesical, hematuria, sensación de peso o dolor suprapúbico	Estos síntomas pueden estar presentes en uretritis causada por <i>N. gonorrhoeae</i> y <i>Chlamydia</i>
Pielonefritis aguda o infección de vías urinarias altas	Dolor e hiperestesia en la zona lumbar (flancos), fiebre, bacteriemia, disuria, sensación de peso o dolor suprapúbico, polaquiuria, hematuria, náuseas/vómitos ocasionales	Un cuadro similar puede presentarse por factores no infecciosos como cálculos renales o infartos del tejido renal.
Infección urinaria no complicada	Es una infección que se presenta en un individuo que tiene todo el sistema urinario normal sin lesiones anatómicas o neurológicas	Es la más frecuente y se presenta en las mujeres jóvenes.
Infección urinaria complicada	Es una infección que se presenta en pacientes con patología asociada de la vía urinaria (litiasis, cálculos, reflujo, etc.)	En los niños, mujeres embarazadas y varones se consideran, por lo general, complicadas
Infección del tracto urinario crónica	La persistencia del mismo agente etiológico por meses o años, con recaídas después del tratamiento.	Cistitis crónica o ITU crónica, se aplica a pacientes que tienen una ITU sintomática persistente o recurrente. Reinfección no significa cronicidad
Recaída ^b	Se considera generalmente como un fallo del tratamiento. Puede presentarse en pacientes con anomalías estructurales de las vías urinarias o sin ellas.	Algunos pacientes tienen recaídas a pesar de la cirugía correctiva. En otro grupo de pacientes se debe descartar prostatitis ^c . Otros pueden requerir tratamientos más largo. U otros no han tomado correctamente el fármaco o puede haber falla en su absorción.
Reinfección ^d	El organismo infectante ha sido eficazmente eliminado mediante el tratamiento, presentando el paciente, tras un intervalo de tiempo, una nueva infección por otro organismo.	Se presenta con frecuencia en mujeres adultas y adultos mayores, limitada al tracto urinario inferior ^e . O está asociada con las relaciones sexuales ^f . Otro grupo de pacientes tienen reinfecciones sin llegar a establecerse la causa.
Bacteriuria asintomática	La presencia de bacterias en la orina sin que haya síntomas. Dos situaciones han demostrado tener consecuencias: el embarazo y la infancia	Se presenta en mayor proporción en mujeres adultas mayores y en menor frecuencia en niños ^g y embarazadas ^h .

^a Aproximadamente un 30% de mujeres jóvenes, sexualmente activas con síntomas de ITU baja, presentan cultivos negativos o con recuentos inferiores a 10³ ufc/ml y la mayoría tienen piuria. Es la que se denomina Síndrome Uretral Agudo que hoy se considera una verdadera ITU.

^c Ejemplo de reinfección: una ITU por *Escherichia coli*, seguida por una infección por *Enterococcus faecalis*. El patógeno original fue erradicado con éxito.

^f Ejemplo de recaída (recurrencia o recrudescencia): tras una aparente erradicación del organismo original, por ejemplo, *Staphylococcus saprophyticus*, el paciente presenta una nueva infección por una cepa no distinta de la primera. Si el intervalo entre la primera y segunda infección es corto puede denominarse fallo terapéutico.



La incidencia de una bacteriuria significativa varía según la edad¹⁰ y el sexo. La bacteriuria de acuerdo a los grupos de riesgo se encuentra en la tabla VIII-2. Si bien las bacterias son los microorganismos más frecuentes que causan una ITU, también pueden estar implicados, virus y hongos. Los virus llegan al aparato urinario también por vía sanguínea en el curso de una enfermedad vírica como el sarampión, las paperas, la rubéola o el citomegalovirus, adenovirus, pudiendo producir infección del aparato urinario. Dentro de los hongos están *Candida albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*¹¹ entre otros. Puede haber presencia de microorganismos en la orina en procesos patológicos que están en otro sitio del cuerpo como por ejemplo *Salmonella spp.*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Histoplasma spp.*, que ocurren por efecto secundario a la infección.

Los microorganismos situados en el intestino, uretra, vagina y en general en la región perineal llegan al tracto urinario por vía ascendente y esto explica de manera notoria la alta incidencia de la infección en la mujer debido precisamente a su diferente configuración anatómica. Esta vía es la forma habitual de llegada, las bacterias procedentes del tracto intestinal en sus porciones terminales colonizan en primer lugar la región perineal y la uretra externa. Se introducen en la vejiga urinaria y posteriormente, a través del uréter, llegan a la pelvis y parénquima renal.

Tabla VIII-2

FACTORES DE RIESGO PARA BACTERIURIA

Edad
 Fenotipo de grupo sanguíneo P2
 Embarazo
 Grupo sanguíneo B y AB
 Elevada densidad de receptores de *pilis (fimbrae)*
 Configuración anatómica urogenital femenina
 Micción anormal
 Coito
 pH vaginal alto
 Obstrucción del tracto urinario
 Litiasis renal
 Vejiga neurógena
 Sonda vesical permanente
 Reflujo vesico-ureteral
 Diabetes mellitus
 Hipertensión arterial
 Enfermedad renal de otra etiología
 Inmunodepresión
 Trasplante renal

Una vez que la bacteria ha llegado a vías urinarias la evolución de una infección depende de la magnitud de la carga bacteriana introducida, así como de factores de virulencia, la resistencia a los antimicro-

bianos, de los mecanismos de defensa del huésped¹³. Los factores de virulencia del microorganismo se encuentran en la tabla VIII-3.

Tabla VIII-3

FACTORES DE VIRULENCIA BACTERIANA EN ITU¹⁴

- Antígeno K
- Antígeno O
- Aerobactina¹⁵
- Exotoxina A
- Factor necrotizante citotóxico
- Cápsula de polisacárido
- Formación de ureasa
- Capacidad de adherencia a través de los *pili* o *fimbria* a las células vaginales y uroepiteliales (adhesinas)¹⁶
- Capacidad de sintetizar guanina, arginina, glutamina
- Resistencia a los antimicrobianos a través de plásmidos y transposones
- Resistencia a las secreciones vaginales de pH bajo
- Resistencia a la actividad bactericida del suero

El aparato urinario normal dispone de una serie de mecanismos de defensa que le proporcionan una resistencia natural a la

colonización y a la infección por gérmenes patógenos¹⁷. Estos mecanismos se encuentran en la tabla VIII-4.

Tabla VIII-4

FACTORES DE DEFENSA DEL HUÉSPED ANTE UNA ITU¹⁸

- Grupo sanguíneo O o A¹⁹
- Fenotipo de grupo sanguíneo P1 ó p
- pH bajo de las secreciones cérvico-vaginales
- Anticuerpos en las secreciones cérvico-vaginales
- Características de la orina
 - Osmolaridad alta o baja
 - Elevada concentración de urea
 - Elevada concentración de ácidos grasos
 - pH bajo
 - Efecto de dilución
 - Presencia de lisozimas e inmunoglobulinas
- Micción normal
- Menor densidad o disponibilidad de receptores
- Configuración anatómica urogenital del varón
- Mecanismo antibacteriano intrínseco en la vejiga
- Respuesta normal de la inmunidad humoral²⁰

TOMA DE MUESTRA

El diagnóstico de ITU se basa en la demostración del agente causal. Ocurre sin embargo que, aún cuando se utilicen las más específicas y sofisticadas técnicas de laboratorio, éstas no tienen valor si no se realiza una recogida adecuada de orina y se remite de inmediato al laboratorio. Si la muestra de orina no puede ser procesada y cultivada en la media hora siguiente a su obtención debe ser refrigerada para evitar la multiplicación de los microorganismos contaminantes. La orina, al igual que la mayoría de muestras destinadas al estudio bacteriológico, debe recogerse antes de la instauración del tratamiento antibiótico. Es preferible obtener la muestra de la primera micción de la mañana²¹. En este momento los recuentos bacterianos serán más elevados debido a la posibilidad que tienen las bacterias de multiplicarse durante la incubación nocturna (cada 20 minutos). En caso contrario se esperarán 4 horas después de la última micción antes de recoger la muestra. No se debe forzar la micción con líquidos y si esto sucede debe constar en la hoja del pedido. La uretra está fisiológicamente habitada por una flora bacteriana saprófita y la orina vesical estéril del individuo sano puede contaminarse al pasar por la uretra o al entrar en contacto con secreciones vaginales o del prepucio. Por lo tanto la orina recogida sin precaución de limpieza previa de los genitales puede suministrar resultados falsamente positivos.

MICCIÓN ESPONTÁNEA

Este método de recolección de orina es posible en adultos y en los niños que ya

pueden controlar esfínteres. En el caso de las mujeres adultas el método idóneo de recogida es el siguiente:

1. Lavado de las manos
2. Lavado de los genitales externos suavemente empleando compresas o gasas humedecidas con agua y jabón; no utilice antisépticos pues pueden mezclarse con la orina y dar resultados falsos negativos. El lavado debe hacerse manteniendo las piernas separadas y abriendo a la vez los labios mayores con una mano mientras que con la otra se lava suavemente desde adelante hacia atrás la zona utilizando una compresa, gasa o toalla por vez.
3. Después del lavado hay que aclarar con agua y secar con una toalla efectuando los mismos movimientos
4. Con los labios aún separados se iniciará la micción desechando el primer chorro de orina, que por arrastre mecánico limpia el canal uretral. Se recogerá la segunda parte de la micción (chorro medio)²² en un recipiente estéril de boca ancha, que inmediatamente se cerrará y se entregará al laboratorio para su procesamiento.

En el varón la recogida de la orina es más sencilla. Hay que dar instrucciones a los varones no circuncidados para que retraigan la piel del prepucio. Una vez que se ha realizado la limpieza del glande y posteriormente a su secado con la gasa o compresa, se recogerá igualmente la orina a mitad de la micción descartando la primera parte de la misma²³.

Para el diagnóstico de prostatitis es útil el masaje prostático combinado con el estudio fraccionado de la orina. Ello per-

mite el diagnóstico diferencial de la prostatitis frente a bacteriuria vesical y uretritis. Este método permite la obtención de cuatro muestras sucesivas que corresponde a

- 1) orina uretral
- 2) orina vesical
- 3) líquido prostático
- 4) orina post-masaje.

El masaje prostático será realizado por el urólogo o el médico familiar, quienes deben instruir al paciente sobre la toma de la muestra y llevar al laboratorio las muestra rotuladas con los respectivos números.

CATETERIZACION

La cateterización uretral no se recomienda como método de rutina en la toma de muestras para cultivo de orina. No debe olvidarse el riesgo que existe de introducir bacterias al insertar el catéter y provocar de este modo una bacteriuria en un paciente que carecía de ella. Sin embargo, hay casos en los que la cateterización uretral es el único método posible para la obtención de una muestra adecuada. Estos casos son la incapacidad o dificultad para orinar, la obesidad marcada o labios muy voluminosos en la mujer y casos de enfermedad o debilidad tan pronunciada que el paciente no puede excretar una muestra útil, y eventualmente en la infancia.

PACIENTES CON SONDA VESICAL

En pacientes con sonda permanente la orina se tomará con aguja y jeringa es-

téril. La sonda debe pinzarse durante 10 a 15 minutos desinfectando posteriormente la sonda con alcohol o povidona yodada en su parte más blanda. En esa zona se pincha con aguja y jeringa y se extraen unos mililitros de orina. La orina debe tomarse mediante aspiración con una aguja a través de un punto desinfectado de la pared del catéter y no de la bolsa de recolección o desconectando el catéter del tubo de recogida. No envíe la punta de la sonda Foley para cultivo.

PUNCIÓN SUPRAPÚBICA

La punción suprapúbica es el método de elección para la recogida de muestra en niños pequeños (recién nacidos y lactantes.) Las indicaciones y contraindicaciones de la punción se encuentran en la tabla VIII-5.

TOMA DE MUESTRA EN NIÑOS

En los lactantes, recién nacidos y niños que todavía no controlan esfínteres (la ITU es rara en neonatos), la toma de muestra se realiza a través de la punción suprapúbica, cateterismo trans-uretral o a través de la colocación de una funda recolectora de orina.

Es importante conocer cómo fue la toma de la muestra pues la confiabilidad tanto del examen de orina como del urocultivo tienen su base en la recolección como lo podemos ver en la tabla VIII-6.

Por lo tanto no olvide registrar la metodología utilizada en la recolección de orina.

Tabla VIII-5

COMPLICACIONES Y CONTRAINDICACIONES DE LA PUNCIÓN SUPRAPÚBICA	
Complicaciones	
1.- Hematuria macroscópica (0.6%)	
2.- Perforación intestinal	
3.- Hematomas de pared	
4.- Bacteriemia anaeróbica	
5.- Peritonitis (excepcional)	
6.- Ruptura de aguja en zona de inserción (excepcional)	
Contraindicaciones	
1.- Micción reciente (<1 hora)	
2.- Niño con cuadro de deshidratación	
3.- Distensión abdominal	
4.- Alteraciones en la coagulación	
5.- Anomalías anatómicas mal definidas del tracto urinario.	

Tabla VIII-6

Métodos de recolección de orina

MÉTODO	CONFIABILIDAD DE LA MUESTRA
Micción voluntaria	Confiable con recolección correcta ^a No aplicable a menores de 3 años
Bolsa adhesiva estéril ^b	Confiable para seguimiento de rutina La negatividad descarta ITU La positividad no confirma ITU
Cateterismo transuretral ^c	Confiable con técnica adecuada Fácil de efectuar en niñas
Punción suprapúbica ^d	Muy confiable

^a Previo lavado genital prolijo

^b Mantenerla pegada a la zona perineal 20 minutos máximo

^c Evitar traumatismos en varones

^d Recomendada en lactantes

TRANSPORTE DE LA MUESTRA

Una vez recogida la muestra de orina ésta debe procesarse inmediatamente y si no es posible se conservará en la refrigeradora a 4°C para evitar la multiplicación bacteriana en máximo 24 horas. Existen en el comercio envases para la recolec-

ción que llevan conservantes incorporado en forma de pastilla. Si no se dispone de este método comercializado se puede preservar la muestra en ácido bórico, cualquiera de ellos pueden usarse en caso que inevitablemente la muestra deba permanecer durante unas horas a temperatura ambiente para su transporte al laboratorio²⁴,

de esta manera se puede preservar el organismo en el número original sin facilitar el crecimiento de contaminantes que puedan haberse introducido en la muestra.

También se puede tomar la muestra y recurrir a la técnica de la lámina inmersa que consiste en sumergir en la orina recién emitida una lámina semejante a un portaobjetos recubierto de medio de cultivo por ambos lados. Una vez realizado esto la lámina se reintegra al recipiente estéril que lo acompaña y se envía al laboratorio. El recuento de bacterias realizado en estas condiciones será el reflejo del número de bacterias viables presentes en la orina en el momento de su emisión.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Aproximadamente entre un 60 a 80% de los urocultivos procesados suelen ser negativos o contaminados. Por lo tanto, antes de realizar un cultivo de orina, es muy útil realizar una tinción de Gram de gota fresca. Este examen microscópico de orina, previo a la siembra es muy sensible y proporciona información de gran interés (si contiene más de 10^5 ufc/cc de orina), pero no ha llegado a sustituir al urocultivo.

El cultivo de la orina debe ser realizado en cualquier paciente con síndrome de poliuria/disuria. Vea figura VIII-2. La no realización de un cultivo dificultará la adopción de medidas posteriores terapéuticas en el caso de que el tratamiento inicial sea ineficaz. ¿Cómo saber si el organismo inicial fue eradicado? ¿Cómo saber si el nuevo organismo es distinto del original? Y, como se mencionó anteriormente, es importante para la terapéutica y conducta a seguir diferenciar si se trata de una ITU recurrente o de una reinfección. Y, a menos que se realice un urocultivo, no será posible para el médico establecer la diferencia. La mayoría de ITUs son de fácil tratamiento pero en un porcentaje menor los casos pueden llegar a ser extremadamente difíciles de tratar. El urocultivo, además de señalar el agente causal, nos permite conocer los patrones de sensibilidad del germen. La mayoría de cultivos en un laboratorio de primer nivel corresponde a orinas, y probablemente sea un costo y trabajo mayor para el personal del laboratorio pero considero que es de utilidad realizar una tinción de Gram de gota fresca, valorar el pH, la densidad de la orina, la presencia de leucocitos y proteínas a toda muestra de orina que va a ser sembrada.

Tabla VIII-8

GRAM DE GOTAS FRESCAS DE ORINA DE ACUERDO A WASHINGTON

- 1) Coloque unas gotas de orina sobre un portaobjetos y déjela secar al aire
- 2) Coloree con tinción de Gram
- 3) Examine la placa con objetivo de 1000X
- 4) La presencia de al menos un organismo por campo de inmersión observado (examine 20 campos) se correlaciona con una bacteriuria significativa ($>10^5$ ufc/cc)





Figura VIII-2
Siembra de una muestra de
orina con asa calibrada.

La muestra de orina puede ser sembrada en una sola caja Petri con agar CLED o Brolacin, o en dos cajas de agar como agar sangre y McConkey o en agar EMB y agar tripticosa soja.

Los procedimientos bioquímicos rápidos de detección de bacteriuria, generalmente presentes en la tirilla de orina, tales como el test de reducción de nitratos a nitritos (prueba de Griess), test de reducción del trifeniltetrazolio, prueba de la glucosa, catalasa, la esterasa leucocitaria que es sensible (75-96%) y específica (94 a 98%) detecta más de 10 leucocitos por cc de orina etc., pueden considerarse con ciertas limitaciones como presuntivos de infección. Son de ayuda para correlacionar con el proceso infeccioso pero no están indicados para usarse como exclusivos en el diagnóstico de infección de vías urinarias.

En caso de procesar grandes volúmenes de urocultivos se pueden utilizar métodos automatizados o semiautomatizados que pudieran resultar costo-efectivos. Existe una gran variedad de equipos y dispositivos comerciales para detectar bacteriuria²² Estos dispositivos son útiles en programas de detección en la práctica ambulatoria, sin embar-

go el uso masivo de ellos debe ser valorado cuidadosamente de acuerdo con la población de pacientes que se está valorando y no reemplaza al cultivo, que permite identificar la bacteria y los patrones de sensibilidad²⁵. Algunos de estos métodos rápidos se encuentran en la tabla VIII-9.

INTERPRETACIÓN DE LOS UROCULTIVOS

Cuando no exista crecimiento a las 24 horas de incubación reincube hasta 48 horas²⁶. Cuando existan $<10^4$ ufc/ml de dos o más tipos de patógenos haga un informe cuantitativo y la identificación mínima de los gérmenes. No realice antibiograma. Sin embargo es conveniente guardar la caja o llamar al clínico para averiguar si ameritará identificación completa y antibiograma, pues podría tratarse de una infección crónica o recurrente o de un proceso obstructivo. Este procedimiento no es válido cuando se trata de flora de la piel o comensales del área genital.

Cuando exista un recuento $>10^4$ ufc/ml de un solo tipo de colonia haga una identificación completa y antibiogra-

Tabla VIII-9

OTROS MÉTODOS PARA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS EN ORINA

Automatizados:

Sistema MS-2 (Laboratorios Abbot) utiliza una cubeta y nefelometría

Sistema AutoMicrobic (bioMérieux Vitek) utiliza un lector de turbidez y un computador interno es el lector del número de colonias

Sistemas rápidos manuales:

Bac-T-Screen Bacteriuria (bioMérieux Vitek). Indica en 1 minuto si hay ITU, no identifica el patógeno

Filtra-Check-UTI (Meridian Diagnostics). Indica en 1 minuto si hay ITU, no identifica el patógeno

URISCREEN (bioMérieux Vitek). Detecta la enzima catalasa. No identifica *Streptococcus*

Qualture. Identifica el posible patógeno y el recuento en 4 horas.

ma. Un cultivo puro de *Staphylococcus aureus* se debe informar con antibiograma independientemente del número de colonias. La presencia de levaduras siempre debe ser informada.

El crecimiento <10.000 ufc/cc de orina de un único patógeno puede ser indicativo de infección. Merece consideración especial si se trata de varones y mujeres sintomáticas con piuria²⁷.

Cuando la orina ha sido tomada con métodos invasivos: cateterización, punción suprapúbica, cistoscopia o cirugía, siempre se debe realizar recuento, identificación total y antibiograma. Algunos autores recomiendan sembrar este tipo de muestra en agar chocolate, sangre, cled, agar sangre para anaerobios y en caldo tioglicolato. En el caso

de cirugía siempre (muestra tomada de riñones o uréter) deben colocarse unas pocas gotas de orina en caldo tioglicolato para lograr la identificación de un número pequeño de microorganismos que en estos sitios anatómicos puedan encontrarse, luego de una incubación de 24 horas haga pases de este caldo a agar sangre, chocolate y McConkey²⁸.

Existen microorganismos que pueden estar causando ITU, pero que no crecen en los medios habituales como *Mycobacterium*, *Haemophilus influenzae*²⁹, *Leptospira*, *Gardnerella vaginalis*, anaerobios. Por este motivo es importante la tinción de Gram pues en principio "todo lo que observemos en el Gram debe crecer". Se debe sospechar de este tipo de gérmenes en orina con

“piuria estéril”. El laboratorio debe tratar de recuperar el germen sospechoso y añadir un medio especial. De ninguna manera debemos incorporar a la rutina estos medios especiales, únicamente lo haremos si el clínico lo solicita o comunica al laboratorio su sospecha. La *Salmonella* puede ser un hallazgo en los urocultivos durante la fase inicial de la fiebre tifoidea, y debe ser reportada. Las posibles causas de urocultivos falsamente negativos se encuentran en la tabla VIII-10.

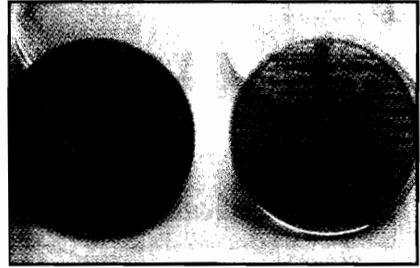


Figura VIII-3
Urocultivo con recuento > de 100.000 ufc/cc de orina. Es útil sembrar en dos cajas, la una para el recuento y la otra para la obtención de las colonias aisladas. Agar sangre para observar la hemólisis de la *E. coli* (hemolisina es un factor de patogenicidad) y un agar McConkey para la observación de la pureza del cultivo.

Tabla VIII-10

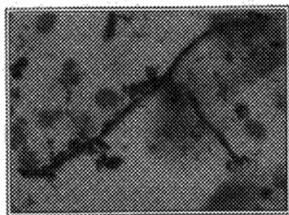
CAUSAS DE UROCULTIVO FALSAMENTE NEGATIVOS

- Orina sobre-diluida (<1.005 de densidad)
- Permanencia de la orina en la vejiga por poco tiempo
- pH urinario inferior a 5 y superior a 8
- Toma de antimicrobianos previa al cultivo
- Contaminación de la orina con el antiséptico de limpieza genital
- Obstrucción uretral completa distal a la infección
- Infección causada por bacterias que requieren medios especiales
- Infecciones crónicas asociadas a recuentos bajos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Grüneberg RN, Wilson APR. Clinician's Manual on Urinary Tract Infections. 1995. Science Press limited. London.
2. Bacheller CD, Bernstein JM. Urinary tract infections. *Med Clin North Am.* 1997;81:719-730
3. Platt, R. Quantitative definition of bacteriuria. 1983. *Am J Med* 75: 44
4. Roberts RO, Lieber MM, Bostwick DG, et al. A review of clinical and pathological prostatitis syndromes. *Urology.* 1997;49:809-821
5. Baldassarre JS, Kaye D. Especial problems of urinary tract infection in the elderly. *Med Clin North Amer.* 1991;75:375-390
6. Buckley RM, McGuckin M, MacGregor RR. Urine bacterial counts following sexual intercourse. *N Engl J Med.* 1978;298:321-324
7. Lucas MJ, Cunningham FG. Urinary tract infection in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 1993;36:855-868
8. Leung AKC, Robson WLM. Urinary tract infection in infancy and childhood. *Adv Pediatr.* 1991;38:257-285
9. Bran JL, Levison ME, Kaye D. Entrance of bacteria into the female urinary bladder. *N Engl J Med.* 1972;286:626-629
10. Nicolle LE, Harding GKM, Preiksaitis J, et al. The association of urinary tract infection with sexual intercourse. *J Infect Dis.* 1982;116:579-583
11. Hansson S, Martinell J, Stokland E, Jodal U. The natural history of bacteriuria in childhood. *Infect Dis. Clin North Am.* 1997;11:499-512
12. Goldberg PK, Kozinn PJ, et al. Incidence and significance of candiduria. *JAMA.* 1979; 241:582-584
13. Svandborg-Eden C. de Man P. Bacterial virulence in urinary tract infection. 1987. *Infect Dis Clin North Am* 1:731
14. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev.* 1991;4:80-120
15. Johnson JR, Moseley SL, Roberts PL., et al. Aerobactin and other virulence factor genes among strains of *E. coli*. *Infect. Immun.* 1983;40:265-272
16. Mannhardt W, Becker A, Putzer M, et al. Host defenses within the urinary tract. Bacterial adhesion initiates uroepithelial defense mechanisms. *Pediatr Nephrol.* 1996;10:568-575.
17. Sobel, JD. Pathogenesis of urinary tract infections: host defenses. 1987 *Infect Dis Clin North Am* 1:751
18. Measley RE, Levinson ME. Host defense mechanisms in the pathogenesis of urinary tract infection. *Med Clin North Am* 1991;75:275-286
19. Kinane DF, Blackwell CC, Brettle RP, et al. ABO blood group, secretor state, and susceptibility to recurrent urinary tract infection in women. *BMJ.* 1982;285-287
20. Rene P, Dinolfo M, Silverblatt FJ. Serum and urogenital antibody response to *Escherichia coli* pili in cystitis. *Infect Immun.* 1982;38:542-547
21. Clarridge JE, Pezzlo MT, Vosti KL. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. In Weissfeld AS, coordinating editor. 1987 *Cumitech* 2A. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
22. Kunin CM. Detection, Prevention and management of urinary tract infections. 1987. 4th ed. Lea and Febiger.. Philadelphia.
23. Lipsky BA, Ireton RC, Fihn SD et al. Diagnosis of bacteriuria in men: specimen collection and culture interpretation. 1987 *J. Infect Dis* 155:847
24. Weinstein MP. Evaluation of liquid and lyophilized preservatives for urine culture. 1983. *J. Clin Microbiol* 18: 912
25. Pezzlo M. Detection of urinary tract infection by rapid methods. *Clin Microbiol Rev.* 1988;268-288
26. Murray PR, Traynor P, and Hopson D. Evaluation of microbiological processing of urine specimens: comparison of overnight versus two days incubation. 1992. *J Clin Microbiol* 30: 1600

27. Kunin CM, White LVA, Hua TH. A reassessment of the importance of "low count" bacteriuria in young women with acute urinary symptoms. *Ann Intern Med* 1993;119:454-460
28. York MK, Brooks GF. Evaluation of urine specimens from the catheterized patient. 1987. *Clin Microbiol. Newsletter* 9:76
29. Gabre-Kidan T, Lipsky B.A., and Plorde J.J. *Haemophilus influenzae* as a cause of urinary tract infections in men. 1984. *Arch Intern Med* 144: 1623



IX. INFECCIONES DEL TRACTO GENITAL



Antes de iniciar con el estudio de la toma y transporte de muestras provenientes de tracto genital es fundamental primero conocer la flora normal habitual del tracto genital femenino y masculino, para evitar el uso innecesario de antimicrobianos. La flora normal del tracto genital femenino varía de acuerdo al pH y a la concentración de estrógenos en la mucosa, la cual depende de la edad de la paciente. Las mujeres prepúberes y postmenopáusicas albergan principalmente *Staphylococcus* y *Corynebacterium*, la misma flora que está presente en la piel, mientras que las mujeres en edades reproductivas pueden albergar un sinnúmero de bacterias facultativas del grupo de enterobacterias (*E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*), *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* así como anaerobios bacilos no formadores de esporas, *Clostridium* y *Lactobacillus*¹. Estos últimos producen peróxido de hidrógeno y su presencia se asocia con un estado saludable del epitelio vaginal².

Muchas mujeres son portadoras de *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B (*Streptococcus agalactiae*)³ el cual puede ser transmitido al neonato a través del canal del parto y podría causar sepsis y meningitis.

Las levaduras (adquiridas del tracto gastrointestinal) pueden ser recuperadas del tracto genital, en una mujer sin sintomatología, sin embargo éstas no son parte de la flora del tracto genital.

La vulva y el pene especialmente el área debajo del prepucio de los varones no circuncidados pueden albergar *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus spp.*, y bacterias grampositivas.

La uretra anterior tanto femenina como masculina, está colonizada por *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus coagulans* negativa, *Corynebacterium* y varios anaerobios

INFECCIONES EN LA INFANCIA

En las niñas, la vulvovaginitis es el problema más frecuente dentro de la consulta pediátrica ginecológica. Varios factores contribuyen con ésto: las condiciones del medio vaginal, pH neutro, epitelio atrófico y gran humedad, además los genitales de las niñas están poco protegidos debido a la poca cantidad de panículo adiposo de los labios mayores y a la ausencia de vello pubiano, a todo esto pueden sumarse los hábitos de higiene incorrectos ropa interior ajustada o de nylon, que favorecen el calor y humedad, hábitos de limpieza⁴.

La mayoría de vulvovaginitis es inespecífica, es decir que obedece a varios factores en los que no está involucrado un microorganismo patógeno causal definido, estas no necesitan un tratamiento antimicrobiano. Mientras que en la vulvovaginitis específicas en niñas prepúberes, se debe considerar como agentes etiológicos de este tipo de infección a los mismos agentes que causan patología en piel y mucosa respiratoria como son *Haemophilus influenzae*⁵ *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, entre otros⁶. Un patógeno importante dentro de las infecciones en niñas constituye la *Shigella flexneri*, que causa vulvovaginitis acompañada de sangrado genital, sin embargo son muy pocos los pediatras que la toman en cuenta como agente etiológico, o dentro del diagnóstico diferencial de este proceso infeccioso⁷. Tam-

bién son pocos los microbiólogos que la buscan en este tipo de muestras.

La *Gardnerella vaginalis* es otro agente infeccioso común en vulvovaginitis, junto con otra flora anaeróbica y *Mobiluncus sp.* Se han realizado varios estudios sobre el papel que desempeña la *Gardnerella vaginalis* en las niñas, y a diferencia del reconocido papel patógeno en mujeres adultas, los resultados en la población infantil son variables, sin que hasta el momento se logre establecer un criterio unánime, sobre la función que ejerce esta bacteria. Así Bartley⁸ indica que el 6% de las niñas sin sintomatología tienen *Gardnerella vaginalis*, Hammerschlag⁹ aisló esta bacteria en el 6% de un grupo de niñas de 1 mes a 10 años. Mientras que Paradise¹⁰ estudiando 54 niñas prepúberes con vulvovaginitis no encontró ni un solo caso, y otros trabajos demuestran que el hallazgo de *Gardnerella vaginalis* en niñas es un indicador de abuso sexual. Zurita¹¹ y colaboradores, aisló esta bacteria en el 14.4% en asociación con otros patógenos y como patógeno único en el 5% de un grupo de niñas menores de 13 años de edad que consultaron por vulvovaginitis, ninguna de las niñas tuvo antecedentes de abuso sexual. El nicho ecológico de esta bacteria es el colon ter-

minal, y por la situación anatómica de cercanía entre ano y vagina afecta a niñas y mujeres sin actividad sexual.

Los niños con uretritis purulenta generalmente albergan patógenos de las vías respiratorias y de la piel, *Streptococcus beta hemolíticos* principalmente A y B, *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*.

TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN GENITAL EN LA INFANCIA

Las muestras genitales en la infancia generalmente se toman para diagnóstico de vulvovaginitis o uretritis. En el caso de la toma de muestras en niñas debe estar presente la madre o la persona a cargo de la niña. Si es menor de tres años es mejor que la niña se sienta en el regazo de la madre y abra las piernas de tal manera que las plantas de los pies se pongan en contacto entre sí (posición de batracio.) Figura IX-1. Antes de la toma de muestra se debe explicar a la niña y a la madre en que consiste el procedimiento. Se observa los genitales y se procede a la toma con un hisopo de algodón.

Si la niña es pre-escolar o escolar se procede a recostarla en la camilla, en igual forma se solicita que doble las piernas y las abra, de tal manera que el operador observe bien la zona genital y el introito. Se procede a la toma de muestra con un hisopo de algodón, haciendo una ligera presión en la región suprapúbica.

Si la madre lo permite, se puede introducir una sonda nasogástrica conectada a una jeringa con 1- 2 ml de suero fisiológico estéril a través del orificio vaginal, inyectar 1 ml de suero fisiológico y extraer.

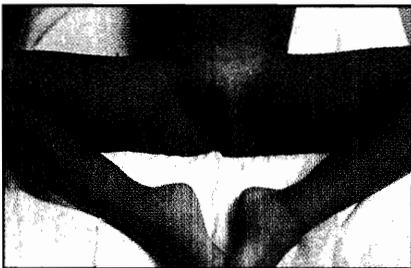


Figura IX-1
Posición para la toma de secreción vaginal en niñas.

En el caso de la toma de muestra uretral en niños, en igual forma debe estar presente la madre o la persona a cargo del niño. La muestra se toma con un hisopo de algodón con alginato de calcio, se retrae el prepucio y se toma la secreción uretral. Se debe explicar previamente al niño y al tutor, en qué consiste la toma de la muestra.

Las infecciones del tracto genital causada por agentes de transmisión sexual en niños y niñas (preadolescentes) son en su mayoría el resultado de abuso sexual. El laboratorio deberá: a) tratar las muestras de este tipo de pacientes con extremo cuidado, b) asegurarse que el espécimen recibido en el laboratorio fue realmente colectado del paciente que consta en la hoja de solicitud, c) identificar y documentar todos los microorganismos aislados debido a las implicaciones médico legales

existentes. Todas las muestras de este tipo deberán ser cultivadas sistemáticamente pues una muestra de este tipo es irrecuperable. Para aislar gonococo u otros patógenos es suficiente la toma de secreción vaginal debido a que, en las niñas prepúberes, está involucrada la vagina más que el cérvix. En caso de lesiones anales se debe proceder igualmente a la toma de una muestra de estas lesiones con un hisopo de algodón. Introduzca 3 cm en el conducto anal con un movimiento rotatorio. En caso de evacuación de heces se debe eliminar el hisopo y utilizar otro.

También deberán obtenerse cultivos para *Chlamydia* en línea celular McCoy, pues los métodos de detección de antígeno con inmunofluorescencia son menos sensibles en niños que en adultos.

TABLA IX-1

PATÓGENOS IMPLICADOS EN INFECCIONES DEL TRACTO GENITAL	
BACTERIAS	HONGOS
<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Haemophilus ducreyi</i> <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Calymatobacterium granulomatis*</i> <i>Treponema pallidum*</i>	<i>Candida sp.</i> Otras levaduras
VIRUS	PROTOZOARIOS
<i>Citomegalovirus</i> <i>Virus Herpes simplex</i> Papillomavirus Adenovirus Coxsackie virus Molluscum contagiosum	<i>Trichomonas vaginalis</i> <i>Enterobius vermicularis</i>
ECTOPARÁSITOS	
<i>Sarcoptes scabiei</i> <i>Phthirus pubis</i>	

* No cultivables

INFECCIONES EN LA EDAD ADULTA

Todo individuo con vida sexual activa puede adquirir una infección por microorganismos como *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *meningitidis*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, otros mycoplasmas, papillomavirus humano, herpesvirus, todos ellos son considerados de transmisión sexual. Algunos de estos organismos pueden existir en el tracto genital en la ausencia de una sintomatología notoria. Los patógenos principales se encuentran en la tabla IX-1.

Al parecer en los últimos años ha habido un descenso de los casos de sífilis y gonorrea con un incremento de *C. trachomatis*, constituyéndose en uno de los agentes más frecuentes de ITS, junto con el papillomavirus. Esta bacteria está claramente asociada con enfermedad pélvica inflamatoria ocasionando infertilidad y nacimientos pretérmino.

El papel de *M. hominis* en la patogénesis de la infección genital es incierto, pero está asociado con infecciones en mujeres como enfermedad inflamatoria pélvica, pielonefritis, fiebre post parto y con morbilidad en recién nacidos y lactantes. *U. urealyticum*, pero no el *M. hominis* ha sido asociado con el síndrome uretral agudo en mujeres y con falla en la reproducción. Está relacionado con uretritis no gonocócica en varones, corioamionitis, nacimientos prematuros, y mortalidad de los bebés de madres infectadas, además de cálculos urinarios.

El virus papilloma humano está presente en proporciones epidémicas entre las personas sexualmente activas, está implicado en la etiología del carcinoma cervical y se ha aso-

ciado con malignidad del pene.

El síndrome de vaginosis bacteriana (VB), ocasionado por *Gardnerella*, *Bacteroides*, *Mobiluncus* y otros anaerobios suelen debutar con abundante secreción vaginal de mal olor (olor a pescado), ha sido implicado con labor de parto prematuro y bajo peso del recién nacido. Así el diagnóstico de esta entidad cada vez toma mayor importancia.

Existen muchos otros agentes que pueden causar enfermedades del tracto genital pero que no pueden ser aislados en forma rutinaria de las muestras clínicas, pues requieren de cultivos celulares, pruebas de biología molecular, serología o detección de antígeno. Estos son Adenovirus, Coxsackie, *Molluscum contagiosum*, el virus de las verrugas venéreas (Papilomavirus) como el del condiloma acuminata tipo 6, 11 y los asociados con carcinoma cervical predominantemente el tipo 16 y 18, *Calymmatobacterium granulomatis*. *Treponema pallidum* y ectoparásitos como el *Sarcoptes scabiei* (sarna o rascabonito) y *Phthirus pubis* (ladi-llas.)

Las prácticas homosexuales y el incremento de las heterosexuales con coito anal han repercutido en el apareamiento de otros microorganismos como agentes de ITS, principalmente gastrointestinales como *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y *Cryptosporidium* así como *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* y *Microsporidium*. Las prácticas orales-genitales probablemente permitan que la *N. meningitidis* colonice e infecte el tracto genital. La diseminación de los virus presentes en las secreciones o en la sangre como Citomegalovirus, Hepatitis B, C y E, HIV está incrementándose a través de este tipo de prácticas sexuales.

TOMA DE LA MUESTRA Y TRANSPORTE

BLÉNORRAGIA O GONORREA

La *N. gonorrhoeae* presenta una variedad de formas clínicas que van desde las infecciones asintomáticas a complicaciones sistémicas. Las infecciones causadas por esta bacteria son: la uretritis, la cervicitis, salpingitis, enfermedad inflamatoria pélvica, conjuntivitis neonatal y artritis. En el caso de la uretritis, las manifestaciones clínicas son mucho más claras en el sexo masculino que en el femenino. En el hombre el síntoma fundamental de la uretritis es la secreción uretral, que es abundante y francamente purulenta en la uretritis gonocócica. Otros síntomas muy comunes son la disuria y la irritación del meato urinario. En la mujer las manifestaciones son más variables. La afectación del cuello uterino es muy frecuente (cervicitis). En ocasiones la secreción uretral purulenta puede pasar inadvertida y la uretritis cursa de forma asintomática; otras veces puede presentarse sólo con disuria y polaquiuria como si fuera una infección urinaria (cistitis). Por último puede manifestarse por abundante secreción vaginal (leucorrea).

Las complicaciones son frecuentes en la mujer por la ascensión de la infección, provocando salpingitis (inflamación de las trompas) y más adelante enfermedad inflamatoria pélvica e incluso esterilidad. Además puede contagiar al recién nacido a su paso por el canal del parto, pudiendo desarrollar una conjuntivitis neonatal u oftalmía neonatorum.

Para recolectar la muestra, para diagnóstico de *N. gonorrhoeae*, se puede utilizar un hisopo o escobillón de algodón, alginato de calcio o tereftalato de polietileno estériles. Las muestras para investigación de *N. gonorrhoeae* se pueden tomar de la uretra, endocérnix, recto y de la orofaringe.

Para la toma de la secreción uretral se recoge directamente el pus con el hisopo. En caso de que no hubiere secreción purulenta evidente se debe proceder a introducir un hisopo delgado de algodón en la uretra (unos 2-3 cm) y se hace girar suavemente. También se puede exprimir la uretra desde atrás hacia delante para evacuar el exudado.

Para la toma de muestra del endocérnix, es necesaria la colocación de un espéculo vaginal para la observación del cuello uterino. Este no debe contener lubricante alguno. Una vez localizado visualmente el cuello se debe limpiar el exocérnix para eliminar el moco, mediante una gasa estéril sujeta con unas pinzas. Introduzca el escobillón hasta 2 cm en el interior del conducto cervical, hágalo girar y muévelo suavemente. Retírelo y colóquelo inmediatamente en el medio de transporte. La toma de secreción vaginal para la investigación de *N. gonorrhoeae* está indicada únicamente en mujeres que han sido sometidas a una histerectomía y en las prepúberes. En las primeras se deberá utilizar un espéculo vaginal para tomar la muestra del fondo de saco posterior y en el caso de las prepúberes es suficiente la toma del exudado sin el uso de espéculo.

Para la toma de muestra del recto, introduzca el hisopo unos 3 cm en el conducto anal con movimientos rotatorios.

Para la orofaringe tomar la muestra con un hisopo de algodón frotándose la región de las criptas de las amígdalas y la pared posterior de la faringe.

En el caso de sospecha de uretritis gonocócica, siempre se debe realizar un extendido (frotis) en un portaobjetos, pues el diagnóstico se hace por tinción de Gram, en donde se pueden observar abundantes polimorfonucleares con muchos diplococos intra y extracelulares en forma de grano de café. En la mujer la presencia de la abundante flora vaginal hace difícil el diagnóstico con una simple tinción de Gram y requiere el aislamiento del gonococo por cultivo. Además del frotis preparado envíe al laboratorio el escobillón o hisopo en el medio de transporte.

TRANSPORTE

Las muestras para aislamiento de gonococo pueden ser transportadas al laboratorio en medio modificado de Stuart o Amies mantenido a temperatura ambiente hasta que se inocule en el medio de cultivo. Una buena recuperación de gonococo es posible si las muestras son cultivadas dentro de las 12 horas de la

recolección. Si la muestra va a demorar más de 12 horas en ser procesada se debería utilizar un sistema comercial especial denominado Plato Jembec¹², que dispone de un medio de Thayer Martin modificado y una pequeña pastilla de CO₂; en este se realiza la siembra, se sella y se envía al laboratorio. Puede utilizarse también el medio Transgrow¹³.

Con el microscopio simple de luz podemos observar una muestra de secreción uretral o endocervical purulentas con sospecha de gonococo mediante una coloración Gram. En el frotis, como ya se mencionó, se examinará la presencia de diplococos Gram negativos intracelulares. Ver figura IX-2 y su presencia generalmente indica gonorrea en los varones. Es importante señalar que lo primero que se debe realizar es la siembra en agar Thayer Martin o agar New York u otro para gonococo¹⁴. Después de la inoculación del medio de cultivo el hisopo es rodado sobre el portaobjetos cubriendo un área de al menos 4 cm². Si la coloración de Gram es característica los cultivos podrían ser no necesarios, pero debido a la alta incidencia de resistencia es conveniente cultivar la cepa para realización de pruebas de sensibilidad.

Figura IX.2.
Coloración Gram. Presencia de diplococos Gram negativos intra y extra celulares.



Los microorganismos que causan descarga vaginal purulenta son *T vaginalis*, levaduras, gonococo, herpes virus, *Streptococcus beta hemolíticos* y *Gardnerella vaginalis*.

Los mismos organismos que causan infección purulenta en la uretra masculina pueden también infectar las células epiteliales del endocérvix femenino.

El moco del cuello uterino debe ser removido suavemente con una bola de algodón antes de ser insertado en el canal cervical el hisopo que recolectará la muestra, éste debe ser rotado y movido de lado a lado durante medio minuto y luego extraído.

Las muestras cervicales, no así las vaginales son particularmente útiles para el aislamiento de herpes, gonococos *Mycoplasma* y *Chlamydia* y deben ser tomadas con un citocepillo o un hisopo especial (delgado, uretral)

Las secreciones vaginales son útiles para aislar *Trichomonas*, levaduras, *Gardnerella vaginalis* y es preferible que sean recogidas del fondo de saco vaginal con un hisopo.

INFECCIÓN POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS

La infección por *C. trachomatis* es una de las ITS más frecuente en todo el mundo. Las infecciones que causa en mujeres son: cervicitis, salpingitis y endometritis; en los varones causa epididimitis, y en ambos sexos produce uretritis, proctitis y conjuntivitis. Puede ocasionar también infecciones como tracoma y neumonías. Las diferentes infecciones se describen en la tabla IX-2. Esta bacteria es un parásito intracelular obligado, sólo pueden multiplicarse en células eucarióticas vivas no en los clásicos agaros. En 1965 se logró establecer un método de cultivo tisular¹⁵ para el desarrollo de esta bacteria.

nar también infecciones como tracoma y neumonías. Las diferentes infecciones se describen en la tabla IX-2. Esta bacteria es un parásito intracelular obligado, sólo pueden multiplicarse en células eucarióticas vivas no en los clásicos agaros. En 1965 se logró establecer un método de cultivo tisular¹⁵ para el desarrollo de esta bacteria.

Tabla IX-2
Variante séricas de la *Chlamydia trachomatis*

SEROVARIIDADES	ENFERMEDAD
A, B, Ba, C	Tracoma
D, E, F, G, H, I, J, K	Infecciones del tracto genital. Conjuntivitis. Neumonía infantil.
L ₁ , L ₂ y L ₃	Linfogranuloma venéreo

TOMA DE MUESTRA Y TRANSPORTE

Este tipo de muestras puede ser tomada con un hisopo. Debido a que el cultivo será en una línea celular, se debe tomar en cuenta la calidad del hisopo¹⁶. En este caso los hisopos deben ser de algodón que han sido tratados con carbón o absorbido todo el material tóxico, como los de rayón, dacrón o polietileno. Los hisopos de alginato cálcico no son apropiados. También el palo de madera (mango del hisopo) debe haber sido tratado, pues puede contener resinas y tóxicos tanto para la *Chlamydia* como para las células del cultivo celular. Los palos plásticos o de metal son generalmente menos tóxicos¹⁷.

Para la toma de muestra de uretra, el hisopo delgado y apropiado es insertado aproximadamente 3-4 cm en el interior de la uretra y rotado suavemente antes de sacarlo. Debido a que la *Chlamydia* es un patógeno intracelular estricto es importante remover las células epiteliales (con el hisopo) de la mucosa uretral. Cuando existe una profusa descarga uretral particularmente en varones ésta puede ser colectada externamente sin necesidad de insertar el hisopo dentro de la uretra. Un cepillo pequeño y delgado de nylon puede ser utilizado para la colección de este material celular, pero su uso ha sido asociado con malestar y sangrado.

La *Chlamydia* causa una cervicitis mucopurulenta con mucha descarga. Todas las muestras del cérvix deben ser tomadas con la ayuda de un espéculo vaginal que permita observar con claridad

el cuello uterino y el fondo de saco vaginal. El espéculo permite la visualización de las paredes vaginales, el cuello y permite remover el moco ecotocervical con una gasa estéril para lograr obtener una buena muestra. El espéculo puede ser humedecido en agua tibia debido a que la mayoría de lubricantes contienen agentes antibacterianos. Las secreciones de una vagina normal contienen gran cantidad de bacterias por lo tanto se debe tener mucho cuidado de no contaminar la muestra con estas secreciones. Se puede tomar la muestra con un hisopo. Introduzca en el cérvix unos 2 cm y manténgalo en esa posición un medio minuto. También se puede reemplazar el hisopo por un cepillo. El uso de un cepillo puede incrementar la oportunidad de recuperar células endocervicales¹⁶. El citocepillo esta contraindicado en mujeres embarazadas. Existe controversia sobre si el citocepillo resulta mejor para la recolección de muestras en búsqueda de *Chlamydia* o si solo el hisopado es suficiente^{18,19}.

La Chlamydia es una bacteria que no puede crecer en las células epiteliales escamosas de la pared vaginal, por lo tanto no causa vaginitis. Son bacterias intracelulares obligadas de las células columnares del cuello uterino. Por lo tanto no envíe muestras de secreción vaginal para estudios de Chlamydia.

Para la toma de la muestra en el recto introduzca un hisopo en el conducto anal hasta la altura de unos 3 cm, haga girar el hisopo. Recoja el exudado de las criptas inmediatamente por encima del esfínter. Puede ser útil realizar una rectoscopia para visualizar la mucosa eritematosa o mucopurulenta para la toma de muestra.

Los hisopados de los exudados de las glándulas de Bartholino no son recomendados debido a que están contaminados con flora vaginal. Las infecciones de estas glándulas deben ser aspiradas con aguja y jeringuilla; el material obtenido debe ser cultivado para aerobios y anaerobios además de *Chlamydia*. Si el cultivo no es posible, se puede colocar el material en un portaobjetos para realizar un frotis para coloración de inmunofluorescencia²⁰.

TRANSPORTE

Las muestras para aislamiento de *Chlamydia* son mejor transportadas en sacarosa-fosfato con antibióticos y suero fetal de ternera. Las muestras deben ser inoculadas

en la línea celular dentro de las dos horas de recolectada. Si las muestras no van a ser inoculadas para cultivo celular en las próximas horas deberían ser refrigeradas. Si el procesamiento va a tardar más tiempo el espécimen debe ser congelado a -70°C ²¹. Es importante agitar la muestra con el medio de transporte en un vórtex y luego remover el hisopo para prevenir toxicidad del algodón o del palo de madera.

Si no se va a realizar cultivos, las muestras deben ser transportadas de acuerdo a las condiciones puestas por el fabricante. Este tipo de estudios son Inmunofluorescencia directa (DFA), Inmunoensayo enzimático (EIA), pruebas rápidas, sondas y amplificación de ácidos nucleicos²².

PRUEBAS RÁPIDAS

Existen varias pruebas rápidas, con resultados en 30 minutos, para la detección directa del antígeno de *Chlamydia* en muestras clínicas. Éstas se encuentran detalladas en la tabla IX-3.

Tabla IX-3

Pruebas rápidas para la detección directa del antígeno de *C. trachomatis*.

PRUEBA*	METODOLOGÍA	MUESTRAS
Surecell	Fijación directa de anticuerpos monoclonales	Orina Exudado cérvico-uterino Uretra Ocular
Clearview	Inmunocromatografía	Endocérvix
Hexagon	Inmunocromatografía	Endocérvix Uretra Orina
Testpack	Inmunocromatografía	Endocérvix

* Nombre comercial

SEROLOGÍA

La detección de anticuerpos tanto IgG, IgM o IgA para el diagnóstico de infección aguda por clamidias del tracto genital inferior y en conjuntivitis no son útiles. Podría encontrarse alguna utilidad, con sueros pareados o con titulaciones elevadas de IgM (>1:32) en linfogranuloma venéreo, neumonía infantil, epididimitis, perihepatitis y salpingitis²³.

MUESTRAS OBTENIDAS DE PIEL Y LAS MEMBRANAS MUCOSAS

Las lesiones genitales de la piel y las membranas mucosas generalmente son de dos tipos, vesiculares y ulcerativas. Las causas de las lesiones pueden ser determinadas por examen físico, histológico, examen microscópico o por cultivo del exudado. Debido a que cualquier lesión genital puede estar altamente contaminada todas las manipulaciones del material deben ser realizadas utilizando guantes.

Las lesiones ulcerativas son generalmente debidas a:

- Chancro sifilítico (*Treponema pallidum*)
- Chancroide (*Haemophilus ducreyi*)
- Estadios tardíos de vesículas herpéticas
- Úlcera del granuloma inguinal (*Calymmatobacterium granulomatis* o *Donovanosis*)
- Úlcera trumática infectada (post-cauterizaciones)
- Úlceras que no impliquen un proceso infeccioso.

TOMA DE MUESTRA PARA SÍFILIS

La sífilis es una infección crónica con diversas manifestaciones clínicas, el agente etiológico es el *Treponema pallidum*. El género *Treponema* comprende cuatro especies que afectan a los seres humanos

1. *Treponema pallidum* causante de la sífilis
2. *Treponema pertenu* causante del pian
3. *Treponema endemicum* causante de la sífilis endémica
4. *Treponema carateum* causante de la pinta.

El pian y la pinta no se consideran ITS.

Todos estos patógenos tienen una morfología similar y son antigénicamente idénticos, por lo que se pueden diferenciar por la epidemiología, las manifestaciones clínicas y el modo de transmisión.

El *T. pallidum* se transmite por contacto directo con una lesión infectada o por contacto con una abrasión cutánea. Macroscópicamente las lesiones de sífilis son generalmente úlceras limpias con bordes endurecidos. Solamente el 30% de los chancros sifilíticos son blandos, diferenciándolas de las lesiones del chancroide que son generalmente necróticos irregulares y muy dolorosos, generalmente se presentan en pares, al lado contrario de la lesión primaria por lo que se conocen como lesiones en beso. Se diferencian también de la úlcera de la donovanosis (que es roja, no dolorosa y generalmente con un borde blanco). De las lesiones herpéticas pueden ser diferenciadas por el dolor y los bordes eritematosos y que generalmente empiezan como vesículas en grupo. En forma general se puede indicar que el material

de las lesiones que sugieren sífilis deben ser examinadas en campo oscuro, las de chancro blando con coloración de Gram y la de Donovanosis por una biopsia para buscar los cuerpos de Donovan.

Limpie el área alrededor de la lesión con una gasa estéril embebida en solución salina. Limpie la superficie de la úlcera con una gasa estéril hasta provocar sangrado, continúe hasta que ya no salga más sangre, limpie y seque el área hasta que salga un líquido seroso. Las muestras ideales son los exudados serosos exentos de hemafíes. Toque la superficie con un portaobjetos limpio e inmediatamente cubra el material con un cubreobjetos. Si sale muy poco material es necesario colocar una gota de solución salina. EVITE QUE SE SEQUE, siempre utilice guantes. Examine inmediatamente la preparación con campo oscuro; debido a que la motilidad decae rápidamente no es posible transportar la muestra de un lugar a otro²⁴.

CAMPO OSCURO

Para la realización de esta prueba necesitamos un microscopio que disponga de un condensador de campo oscuro, no puede realizarse con un microscopio de luz, ni de contraste de fase.

Inmediatamente examine con campo oscuro con lente de 40X para ver los treponemas móviles, miden 8 a 10 μm , un poco más que los glóbulos rojos y tienen entre 8 a 14 curvas. Una vez que se ven se debe confirmar con el aumento de 100X. Los treponemas móviles están presentes en una lesión fresca de chancro de sífilis. Su característica de movilidad puede ayudar

a realizar un diagnóstico presuntivo de esta infección antes que una respuesta serológica pueda ser detectada. El campo oscuro es necesario debido a que el organismo es demasiado delgado para ser visto en un microscopio normal o con contraste de fase.

Es importante llevar un control de calidad del campo oscuro, para ello haga un frotilis con una muestra de raspado de la superficie mucosa de la mejilla. Se deben observar un sinnúmero de espiroquetas delgadas fusiformes. Siempre se debe hacer este control de calidad en paralelo con la muestra del paciente.

TEST SEROLÓGICO PARA SÍFILIS

El diagnóstico de sífilis se basa principalmente en la demostración del organismo en las lesiones ulcerativas, o a través de pruebas serológicas que demuestran los anticuerpos contra treponemas. Los test serológicos miden dos tipos de anticuerpos: los "treponema" y los "no treponema". Los anticuerpos "treponema" son producidos en contra de los antígenos de los organismos por sí mismos, mientras que los anticuerpos "no treponemas" a menudo llamados anticuerpos reaginicos son producidos por los pacientes infectados en contra de los componentes de las células mamíferas. Estos anticuerpos aunque casi siempre se producen en pacientes con sífilis son también producidos por pacientes con otras infecciones como lepra, tuberculosis, malaria, chancroide, leptospirosis, enfermedades por rickettsia, linfogranuloma venéreo, sarampión, varicela, hepatitis, mononucleosis y condiciones no infecciosas como enfermedades

autoinmunes incluyendo artritis reumatoidea, embarazo, edad avanzada e inmunizaciones recientes. Cuando una prueba de sífilis es positiva en un paciente sin sífilis se denomina prueba biológica falsamente positiva.

Las dos pruebas universalmente usadas dentro de las pruebas serológicas "no treponema" son el VDRL (**Venereal Disease Research Laboratories**) y el RPR (**Rapid Plasma Reagin**). Cada una de estas es una prueba de floculación o aglutinación en la cual partículas de antígeno soluble son agrupadas para formar grandes partículas visibles como grumos cuando son agregados por los anticuerpos. Las pruebas son sencillas de realizar. Las dos pruebas tienen una sensibilidad del 100% en el estadio II de sífilis y baja a 1% y 0% en estado III.

Las pruebas serológicas "treponema" incluyen FTA-ABS (del inglés Fluorescents Treponemal Antibody Absorption) y la prueba de MHA-TP (del inglés microhemagglutination). Otra prueba la TPI (del inglés *Treponema pallidum immobilization*) es escasamente realizada hoy en día debido a que requiere que se mantengan los treponemas viables pasando por los testículos de los conejos. El FTA-ABS se lleva a cabo mediante la cobertura total de los treponemas fijados en un portaobjetos con el suero del paciente sospechoso de tener sífilis debido a una prueba positiva previa de VDRL o RPR. El suero del paciente es primero absorbido con un antígeno "no treponema" (adsorbente), para reducir las reacciones cruzadas no específicas. El reactivo de fluorescencia conjugada anticuerpo antihumano es luego aplicado como un marcador de anticuerpos antitrepo-

nomas específicos en el suero del paciente. Esta prueba no debe ser usada como un procedimiento inicial en el diagnóstico de sífilis. En sífilis secundaria alcanza el FTABs una sensibilidad del 100%, al igual que MHA-TP, mientras que TPI un 97%. En sífilis terciaria la sensibilidad es de 98%, 95% y 95% respectivamente.

TOMA DE MUESTRAS PARA CHANCRO BLANDO (CHANCROIDE)

Es una ITS aguda que produce úlceras en los genitales asociadas a menudo a una linfadenitis inguinal supurativa causada por el *Haemophilus ducreyi*. Se transmite a través de la piel intacta o lesionada. Aparece como una pápula que se transforma en pústula y luego se ulcera en aproximadamente 48 horas. La úlcera es dolorosa, irregular y de bordes irregulares, rara vez presenta induración de ahí su nombre de "blando", la base de la úlcera presenta un exudado purulento y necrótico. Las úlceras pueden confluir u hacer una lesión gigante. El 50% de los pacientes presentan adenitis unilateral dolorosa, éstos pueden supurar y drenar espontáneamente.

La toma de muestra se realiza previa la limpieza de la base de la úlcera con una gasa, se toma la muestra con un hisopo de dacron del fondo de la úlcera mediante frotamiento de la base. La muestra puede ser transportada en Stuart hasta que sea inoculada en agar chocolate enriquecido con 1% de IsoVitalax (BD Microbiologic Systems) y vancomicina (3 ug/ml) o en agar chocolate suplementado con suero fetal de ternero y vancomicina. O puede ser transportada con atmósfera del 5% de



CO₂ a 35°C. Para ello puede utilizar una jarra a la que se coloca una vela y se tapa hasta que la vela se apague, la jarra debe contener una gasa empapada con agua estéril para mantener la humedad, condición indispensable para la supervivencia del *H. ducreyi*. Si esto no es posible se puede colocar la muestra en un caldo de tioglicolato enriquecido con hemina L-glutamina y albúmina bovina. Este medio al parecer mantiene a la bacteria viable durante varios días a 4°C²⁵.

TINCIÓN GRAM

Todas las lesiones ulcerativas sospechosas de etiología bacteriana deben colorearse con Gram. En el frotis de una muestra obtenida de chancroide se observarán bacilos Gram negativos pleomórficos y cocobacilares dispuestos en cadenas o grupos, Si bien esta tinción puede ser útil, el cultivo ha demostrado ser más sensible.

TOMA DE MUESTRAS PARA HERPES GENITAL

El virus Herpes simple comprende dos variantes séricas HSV-1 y HSV-2. El primero tiende a causar lesiones bucofaríngeas mientras que el segundo se asocia a lesiones genitales sin embargo ambas variedades pueden infectar indistintamente estas localizaciones. Además de ITS, el virus Herpes puede causar infecciones en la piel, mucosas, sangre y líquido cefalorraquídeo²⁶.

La toma de muestra se realiza a través de la apertura de las vesículas con una lance-

ta y si requiere aspirar, utilice una jeringa de insulina, raspe el fondo de la vesícula o de las lesiones abiertas con un hisopo de Dacron (lo que permita el paciente pues suelen ser dolorosas), para recoger las células infectadas; los virus se encuentran en la base de la vesícula. Colóquese inmediatamente en los viales que contengan 1 ml de medio de transporte de virus y manténgase a 4°C hasta el momento de cultivo. Durante el transporte se produce siempre una ligera disminución de los virus, por lo que sí entre la recogida y el cultivo se demorará más de 48 horas. Se debe congelar la muestra a -70°C. Si se va a realizar una tinción de Tzanck aplique un portaobjetos sobre la lesión de tal manera que el exudado se pegue al vidrio. Coloree con May-Grünwald-Giemsa, para examinar las típicas células gigantes multinucleadas. El material obtenido de la vesícula puede ser puesto en un portaobjetos para pruebas de fluorescencia. Es importante anotar que los virus son recuperados de lesiones activas; es poco probable que se logren recuperar de lesiones viejas (secas, costrosas o ulcerativas), pues éstas albergan virus en escasa cantidad. En estos casos se debe eliminar las costras y fro-tarse enérgicamente con el hisopo la base de la lesión para desprender las células epiteliales infectadas. Las líneas celulares en las que crecen óptimamente los virus del herpes son los fibroblastos diploides humanos, en particular las células MRC-5 y Vero, y las células de riñón de hámster lactante y de riñón de conejo.

Existen comercialmente anticuerpos monoclonales o policlonales en contra de antígenos herpéticos ya sea de tipo 1 y 2. Cuando la muestra contiene suficientes células, la fluorescencia puede ser positiva



en un 70 a 90% de pacientes²⁷. Los laboratorios que rutinariamente procesan material genital para investigación de herpes deberían usar la fluorescencia cuando se desea una prueba rápida, pues el cultivo celular, prueba de elección para el diagnóstico, se demora 48 horas, cuando los títulos virales son altos, caso contrario puede demorar 4-6 días. Los marcadores no fluorescentes tales como biotina, avidina-peroxidasa-rábano o fosfatasa alcalina también son conjugados para anticuerpos específicos a menudo permiten una detección de células infectadas en las capas de tejido celular. Tales reactivos han sido desarrollados para usar directamente en muestras clínicas aunque la sensibilidad no es mejor que el cultivo para definir un diagnóstico definitivo²⁸.

PRUEBA DE TZANCK

Cuando se va a realizar la prueba de Tzanck (Tinción de May-Grünwald-Giemsa o Wright) las vesículas, luego de ser abiertas o rotas, pueden ser presionadas con un portaobjetos directamente para la búsqueda de células gigantes multinucleadas. Esta prueba no es específica y es menos sensible que los métodos de cultivo o detección de antígenos, por lo que esta prueba de tinción puede considerarse como un método limitado para el diagnóstico de infección por herpes simple²⁹.

TOMA DE MUESTRA PARA GRANULOMA INGUINAL

El granuloma inguinal (Donovanosis) es una infección crónica de transmisión sexual causada por el *Calymmatobacterium*

granulomatis (Corpúsculos de Donovan) que afecta la piel, las mucosas y el sistema linfático de los genitales y de la región perineal. La lesión inicial es un nódulo subcutáneo indurado que luego se ulcera con bordes definidos, dolorosa y suele sobreinfectarse, también pueden aparecer otras lesiones por autoinoculación y puede diseminarse por vía hematogena a huesos, articulaciones y el hígado.

Para la toma de muestra se debe limpiar la zona granulomatosa rojiza con una gasa impregnada en solución salina y secar con otra gasa. Utilizando un bisturí No. 15 o a través de una biopsia por sacabocados obtener un pequeño fragmento de tejido. Coloque en suero salino y envíe inmediatamente al laboratorio. Allí este pedazo de tejido debe aplastarse entre dos portaobjetos para la realización de las improntas. Déjese secar al aire. No triture el tejido²⁷.

TINCIÓN LEISHMAN, WRIGHT O MAY-GRÜNWARD-GIEMSA

El diagnóstico de granuloma inguinal es realizado a través de la tinción de una biopsia de tejido, obtenido del filo de la base de la úlcera con Leishman, Wright o Giemsa y buscar los cuerpos de Donovan (coloración bipolar de bacilos intracelulares dentro de los macrófagos.) Los citólogos y patólogos generalmente son los que examinan este tipo de muestras más que los microbiólogos. No existe un medio de cultivo para el aislamiento de *C. granulomatis*.



EXAMEN DE MATERIAL DE BUBONES

Los bubones o ganglios linfáticos agrandados presentes en la región inguinal generalmente evidencia una infección del tracto genital. Los bubones son comunes en pacientes con sífilis primaria, herpes genital, linfogranuloma venéreo y chancroide. En el caso de los pacientes con SIDA pueden mostrar linfadenopatía generalizada. Otras enfermedades que no son de transmisión sexual como peste, tularemia y linfoma pueden también producir bubones. Los materiales de los bubones pueden ser aspirados para examen microscópico y cultivo.

ASPIRADO DE LOS BUBONES

Debe ser realizado por el médico. El ganglio linfático agrandado es a menudo visible para ser aspirado con facilidad. Limpie la superficie a ser puncionada con alcohol yodado y deje 1 minuto. Introduzca una aguja No. 21 en el nódulo a través de la piel, si el nódulo no es fluctuante como en la sífilis la aguja es introducida en varias direcciones dentro del nódulo mientras que se realiza la succión. El material aspirado del nódulo no fluctuante es examinado bajo campo oscuro para espiroquetas. El material del nódulo fluctuante es aspirado por succión si no sale pus la aguja se deja en el sitio se saca la jeringa y se reemplaza por otra que contenga 1 ml de solución salina estéril se inyecta en el nódulo y se extrae nuevamente. ES IMPORTANTE UNA TÉCNICA RIGUROSAMENTE ASÉPTICA. La muestra extraída es cultivada en agar chocolate y 5% de agar sangre de cordero en un medio especial para *Haemophilus ducreyi* y en tioglicola-

to. Incube a 33°C. Realice una tinción de Gram. El material de la lesión se coloca también en sucrosa buffer para cultivo de *Chlamydia* y examinado para anticuerpos mediante inmunofluorescencia.

TOMA DE MUESTRAS PARA ESTUDIOS VIRALES

Para cultivos. Las muestras para virus pueden ser recolectadas con un hisopo de algodón, Rayon o Dacron, sólo hay que tener en cuenta que los hisopos con alginato de calcio no sirven para herpes pues esta sustancia lo inactiva.

Las muestras para cultivo de virus deben ser enviadas refrigeradas, debe evitarse la congelación y el transporte a temperaturas altas. La muestra debe ser procesada dentro de las 12 a 24 horas de la recolección. Bajo ciertas condiciones especiales el tiempo puede ser mayor, en estos casos se debe mantener a -20°C preferiblemente a -70°C. Las muestras que van a ser congeladas deben ser primero diluidas o emulsionadas en un medio de transporte viral. Hay que considerar que durante el almacenaje se puede perder gran parte de la viabilidad de los virus. El medio de transporte debe contener proteínas como las del suero, albúmina o gelatina para estabilizar el virus (suero fetal de ternera) y antimicrobianos para prevenir el sobrecrecimiento de bacterias contaminantes y hongos (vancomicina 20 ug/ml y gentamicina 50 ug/ml y anfotericina B 10 ug/ml. Los medios de transporte pueden ser Stuart, Amies, Leibovitz-Emory, HBSS (Hanks balanced salt solution) y el medio de cultivo tisular Eagles. Para el transporte de una muestra para investigar herpes

puede utilizarse un Culturette (BD).

Para serología. La sangre para la serología debe ser enviada en un tubo estéril, se separa el suero y se lo guarda a 4°C si se va a tardar en correr la prueba horas o días, pero si se va a tardar semanas debe almacenarse a -20°C. Recuerde que cuando se va a realizar una titulación de IgM para virus es preferible hacerlo antes que se haya congelado el suero debido a que este tipo de anticuerpos pueden formar agregados insolubles durante la descongelación.

Existen otros métodos serológicos para el diagnóstico de ITS. La prueba de ELISA es de primera elección para la detección de anticuerpos para gonococo (Gonozyme, Abbott Laboratorios) herpes, citomegalovirus, VIH, (si es VIH positivo por ELISA, se debe confirmar la prueba con Western Blot.) Pruebas rápidas como látex aglutinación para CMV (CMVScan BD) son aceptables. Una prueba de hibridización para

clamidia y gonococo creada por GenProbe, la PACE 2, que usa quimioluminiscencia es muy útil debido a que los resultados están en 2 horas, la prueba es muy sencilla, pero se necesita el lector que es relativamente costoso³⁰.

TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN VAGINAL EN LA MUJER ADULTA

Las infecciones de la vulva y de la vagina son uno de las consultas ginecológicas más frecuentes. Es examen de la secreción vaginal es muy útil para determinar el agente etiológico de la vulvovaginitis y de la vaginosis bacteriana. La vulvovaginitis puede ser causada por levaduras y por tricomonas, mientras que la vaginosis, término surgido del hecho que es una condición no invasiva, causada por una asociación de anaerobios y *Gardnerella vaginalis*. Los agentes etiológicos de infección vulvo vaginal se encuentran en la tabla IX-4.

Tabla IX-4

AGENTES ETIOLÓGICOS	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO
Candidiasis: <i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i>	Prurito vaginal emisión de un flujo blanquecino espeso e inodoro, disuria, eritema de los labios menores y vulva	FRESCO GRAM CULTIVO
Tricomoniasis: <i>Trichomonas vaginalis</i>	Prurito irritación vaginal flujo espumoso de color gris o amarillo verdoso. Fetidez vaginal y disuria	FRESCO CULTIVO IF ELISA
Vaginosis bacteriana: <i>Bacteroides spp</i> <i>Mobiluncus spp</i> <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Mycoplasma hominis</i>	Flujo homogéneo pegajoso de color blanco grisáceo, olor a pescado	FRESCO GRAM CULTIVO*

* No realizado de rutina.

Un examen directo de una preparación al fresco de una descarga vaginal suele ser útil para un diagnóstico rápido de *T. vaginalis* aunque el uso de cultivo o de anticuerpos monoclonales fluorescentes detectan mejor las muestras positivas. Los trofozoitos móviles pueden ser visualizados en una preparación al fresco por un buen especialista en 2/3 casos de tricomoniasis por lo que en algunos laboratorios combinan el estudio microscópico directo con el cultivo.

Las *Trichomonas vaginalis* pueden ser observadas por anticuerpos de fluorescencia directa (DFA) distribuido por Meridian Diagnostics, Cincinnati, y cultivadas en el medio de Diamond o en el caldo o en el agar Bacto Kupferbergbre (Difco) que son inoculados con las secreciones directamente. El caldo contiene cloranfenicol que inhibe la flora adicional.

La vaginosis bacteriana caracterizada por muy mal olor y secreción vaginal abundante puede ser diagnosticada también con un examen microscópico directo. La muestra está principalmente llena de células epiteliales de descamación muchas de las cuales son completamente cubiertas por cocobacilos Gram negativos delga-

dos cortos. Son las llamadas células guía o clave (Vea figura IX-3), que han sido asociados históricamente con *Gardnerella*, pero que están en realidad asociadas con actividad sinérgica con varios organismos anaeróbicos como *Prevotella sp*, *Peptostreptococcus* y algunas veces *Mobiluncus* (bacilos curvos) y *Mycoplasma*. Aunque la *Gardnerella vaginalis* puede ser cultivada en una sangre humana en condiciones anaeróbicas ha sido relegado de la rutina debido a que el diagnóstico clínico puede ser realizado mediante cuatro criterios³¹:

1. Flujo homogéneo grisáceo de mal olor;
2. Células "guías" observadas en el fresco o en la coloración de Gram;
3. Prueba de la aminas positiva a la adición de una gota del 10% de KOH a un lado del espéculo vaginal; y,
4. Un pH vaginal mayor de 4.5

Por último, una muestra directa también es muy útil para diagnóstico de levaduras y pseudomicelios que pueden ser observados tanto en fresco, Gram (Figura IX-4), como en una muestra de secreción a la que se le ha añadido unas gotas de KOH al 40%, esto permite la disolución de las proteínas de la muestra e incrementa la visualización de los hongos. Sin embargo o al igual que en el caso de las trichomonas, las técnicas de cultivo para hongos son más sensibles que la visualización directa.



Figura IX-3
Coloración Gram: Células vaginales impregnadas de bacterias conocidas como "células guía" o "clave".

El agar A8 o un medio bifásico para *Mycoplasma* (Mycotrim Irvine Scientific Santa Ana California) puede ser utilizado para el aislamiento de *Mycoplasma* y *Ureaplasma urealyticum* aunque los medios preparados comercialmente no son tan sensibles como los medios preparados frescos, para ello necesitamos suero de caballo. *Mycoplasma genitalium* puede no crecer en estos medios comerciales debido a la presencia de acetato de talio³². Todos ellos crecen más rápido que *M. pneumoniae* y pueden detectarse en 2 a 5 días. No se dispone de técnicas serológicas ni pruebas de detección rápidas para el diagnóstico sistemático de estas infecciones³³. Los micoplasmas genitales pueden habitar en la parte baja del aparato genitourinario en mujeres asintomáticas. Se han aislado en la orina, semen y uretra distal de varones, igualmente asintomáticos³⁴. *U. urealyticum* se detecta en la vagina del 40 al 80% de mujeres con vida sexual activa y asintomáticas, mientras que *M. hominis* entre el 21 y 53%³⁵.

CULTIVO DE LA SECRECIÓN VAGINAL PARA OTROS ESTUDIOS QUE NO SON INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL (ITS)

El cultivo del canal vaginal junto con el de un hisopado rectal durante la semana 34 a 36 del embarazo, puede predecir la presencia del *Streptococcus* grupo B. Bacterias implicadas en meningitis y sepsis del recién nacido. Infecciones que pueden ser evitadas con profilaxis durante el parto, de allí la importancia de realizar el cultivo en el período mencionado. Existen también pruebas de antígeno rápidos en las

secreciones vaginales obtenidas durante la labor de parto que están siendo evaluadas para predecir si esas madres probablemente al dar a luz niños colonizados con esta bacteria, aunque el uso de esta prueba es muy controversial³⁶. El cultivo de esta bacteria se realizará siempre en los dos tipos de muestras indicadas, pues aumenta la probabilidad de recuperación. Es importante tener en cuenta que un porcentaje de estos *Streptococcus* no producen hemólisis en el agar sangre de corde-ro.

INFECCIONES DE LA PELVIS FEMENINA

La enfermedad inflamatoria pélvica es a menudo causada por los mismos microorganismos que causan cervicitis o que están albergados en la mucosa vaginal. Debido a la profusa flora normal del tracto vaginal las pacientes que presenten una infección peritoneal, la muestra debe ser recogida evitando la contaminación con la flora vaginal. El material aspirado colectado con aguja-jeringa representa la mejor muestra. Si no es posible obtener la muestra durante la cirugía o la laparoscopia



Figura IX-4
Coloración Gram: Levaduras, levaduras en gemación y pseudomicelios en una secreción vaginal.

pia, se debe realizar una colección del contenido intrauterino a través del cérvix ya sea con el dispositivo de succión curetaje protegido (Pipelle, Unimar Inc, Wilton Conn) o con el dispositivo doble ciego (Uterine Sampling Device, Meditech Watertown Mass). Otra forma de tomar la muestra, pero poco practicada hoy en día es mediante culdocentesis después de una decontaminación de la vagina con povidona yodada. De cualquier manera que el material haya sido tomado, debe ser colocado en un medio de transporte para aerobios y anaerobios. Una vez en el laboratorio, se inicia con una tinción de Gram para observar flora mixta anaeróbica, gonococo o ambos. Otra parte de la muestra servirá para examen de fluorescencia directa y cultivo para clamidia. Si las muestras han sido obtenidas sólo con hisopado deberán ser cultivadas solamente para gonococo y clamidia. Los hisopados no sirven para anaerobios.

INFECCIONES DE ÓRGANOS INTERNOS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO

Las infecciones de próstata, epidídimo y testículos son generalmente bacterianas.

En los hombres jóvenes la *Chlamydia* es la causa principal de epididimitis y posiblemente de prostatitis. La orina o descarga colectada vía uretral es la muestra de elección a menos que haya un absceso que pueda ser drenado quirúrgicamente. La orina (los primeros pocos milímetros de una micción normal) puede ser recogida antes y después de un masaje prostático. El líquido obtenido durante el masaje debe ser inoculado para anaerobios, aeróbicos y microaerofílicos. Revise capítulo VIII, el masaje prostático y toma de la muestra. La siembra e identificación se realiza igual que para secreción vaginal. En pacientes con sospecha de SIDA u otras enfermedades relacionadas con inmunosupresión sistémica el semen y la orina deben ser cultivados para citomegalovirus. La muestra es transportada inmediatamente a un laboratorio de virología de referencia. La refrigeración puede preservar el virus por algunas horas, pero las muestras que van a ser mantenidas por más tiempo deberían ser puestas en un medio de transporte.

BIBLIOGRAFÍA

1. Larsen B. Vaginal flora in health and disease. Clin Obstet Gynecol. 1993;36:107-121
2. Eschenbach DA, Davick PR, Williams BL, et al. Prevalence of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis. J Clin Microbiol. 1989;27:251
3. Shafer MA, Sweet FL, Ohm-Smith MJ, et al. Microbiology of the lowest genital tract in postmenarchal adolescents girls: Differences in sexual activity, contraception, and presence of nonspecific vaginitis. J Pediatr 1985;107:974-981
4. Altchek A. Recognizing and controlling vulvovaginitis in children. Contemporary Pediatrics. 1985 2:59-62.
5. Cox, R.A.. *Haemophilus influenzae*: An underrated cause of vulvovaginitis in young girls. J Clin Pathol 1997;50: 765-768
6. Pena, M.J., M.I. Campos-Herrera, M.C. Ruiz, et al. Estudio microbiológico de vulvovaginitis en niñas prepúberes. Enf. Infecc Microbiol Clin. 1996: 14:311-313
7. Zurita J, García A.M., Cuesta P., et al. *Shigella flexneri*: una causa subestimada de vulvovaginitis en niñas con sangrado genital. Revista Médica Vozandes. 2002, 14:32-38
8. Bartley, L.D., L. Morgan, M.E. Rimsza.. *Gardnerella vaginalis* in Prepubertal Girls. Am J Dis Child 1987;141: 1014-1017.
9. Hammerschlang, M.R., S. Alpert, I. Rosener, et al. Microbiology of the vagina in children: Normal and potentially pathogenic organisms. Pediatrics. 1978; 62:57-62
10. Paradise, J.E., J.M. Campos, H.M. Friedman et al. Vulvovaginitis in premenarcheal girls. Clinical features and diagnostic evaluation. Pediatrics, 1982; 70:193-198
11. Zurita, J., L. Bravo, y G. Maggi. *Gardnerella vaginalis* en niñas menores de 13 años. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas. 1990; 15:7-11
12. Jephcott, A.E., M.N. Bhattacharyya, D.H. Jackson. Improved transport and culture system for the rapid diagnosis of gonorrhoea. Bri J of Ven Dis. 1976; 52:250-252
13. Taylor, E., I. Phillips. Assesment of transport and isolation methods for gonococci. Bri J Ven Dis. 1980; 56:390-393
14. Thayer, J.D., J.E. Martin. An improved selective medium for cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Public health reports 81:559-562. 1966
15. Gordon. F.B., A.L. Quan. Isolation of the trachoma agent in cell culture. Proc. Soc Exp Biol. And Med. 1965; 118:354-359
16. Mahony, J.B., M.A. Chernesky. Effect of swab type and storage temperature on the isolation of *Chlamydia trachomatis* from clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 1985; 22:865-867
17. Mårdh, P.A., B. Zeeberg. Toxic effect of sampling swabs and transportation test tubes on the formation of intracytoplasmic inclusions of *Chlamydia trachomatis* in MCCoy cell cultures. Bri J Ven Dis. 1981; 57:268-272
18. Barnes, R.C. 1989. Laboratory diagnosis of human chlamydial infections. Clin. Infecc. Rev. 1989; 2:119-136
19. Lafevre, J., Lapierre, H., Rousseau, H., and Masse, R. Comparison of three techniques for detection of *Chamydia trachomatis* in endocervical specimens from asymptomatic women. J. Clin. Microbiol. 1989; 27:1266
20. Lindner, L.E., J.A. Nettum, S.I. Miller. et al. Comparison of scrape, swab, and cytobrush samples for the diagnosis of cervical chlamydial infection by immunofluorescence. Diagn Microbiol. Infect. Dis. 1987; 8: 179-181
21. Gordon, F.B., et al. Detection of *Chlamydia (Bedsonia)* in certain infections of man. I. Laboratory procedures: comparison of yolk sac and cell culture for detection and isolation. J. Inf. Dis. 1969; 120:451-462
22. Reeve, P., J. Owen, J.D. Oriol. Laboratory procedures for the isolation of *Chlamydia trachomatis* from the human genital tract. J. Clin. Path. 1975; 28:910-914



23. Richmond, S.J., et al. Antibodies to *Chlamydia trachomatis* in cervicovaginal secretions: relation to serum antibodies and current chlamydial infection. *Sex. Trans. Dis.* 1980; 7:11-15
24. Baron, E.J. and Finegold, S.M. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, ed. 9. p.258. Mosby, St Louis.
25. Dangor, T., F. Radebe., R.C. Ballard. Transport media for *Haemophilus ducreyi*. *Sex. Trans. Dis.* 1993; 205:5-9
26. Corey, L., P.G. Spear. Infections with herpes simplex viruses. *New Engl J Med.* 1986; 314:686-691
27. Biegeleisen, J.Z., L.V. Scott, V. Lewis. Rapid diagnosis of herpes simplex virus infections with fluorescent antibody. *Science.* 1959; 129:640-641
28. Benjamín, D.R. Use of immunoperoxidase for rapid diagnosis of mucocutaneous herpes simplex virus infection. *J. Clin. Mic.* 1977; 6:571-573
29. Corey L, Adams HG, Brown ZA, et al. Genital herpes simplex infection: Clinical manifestations, course, and complications. *Amm Intern Med.* 1983;98:958
30. Limberger, R.J., Biega, R., Evancoe, A., et al. Evaluation of culture and the Gen-Probe PACE-2 assay for detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* endocervical specimens transported to a state health laboratory. *J.Clin Microbiol.* 1992; 30: 1162
31. Catlin, B.W. *Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations, and controversies. *J. Clin. Microbiol:* 1992; 30:115
32. Wood, J.C., Lu, R.M., Peterson, E.M., et al. Evaluation of Mycotrin-GU for isolation Of *Mycoplasma* species and *Ureaplasma urealyticum*. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 22:789
33. Oriel, J.D. Role of genital mycoplasma in nongonococcal urethritis and prostatitis. *Sex. Transm. Dis.* 10 (suppl.): 1983; 263-265.
34. Moller. B.R. The role of mycoplasmas in the upper genital tract of women. *Sex. Transm. Dis.* 10 (suppl.): 1983; 281-282
35. Stamm, W.E., Running, K., Hale, J., and Holmes, K.K. Etiologic role of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in women with the acute urethral syndrome. *Sex. Transm. Dis.* 10 (suppl.): 1983; 318-320
36. Granato, PA., and Petosa, M.T. Evaluation of a rapid screening test for detecting group B streptococci in pregnant women. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29:1536



X. ENFERMEDADES MICÓTICAS



Los hongos son microorganismos eucariotes, heterótrofos cuya capacidad de causar enfermedad en el ser humano, al parecer, es un fenómeno accidental. Existen más de 50.000 especies de hongos, sin embargo apenas llegan a 100 los que pueden ser encontrados en las muestras clínicas.

Las micosis pueden ser:

1. Superficiales que afectan piel, pelo y uñas
2. Subcutáneas que afectan al tejido celular subcutáneo
3. Sistémicas que producen infecciones en los órganos internos
4. Oportunistas que afectan

Los hongos pueden presentarse en forma de levadura y en forma de mohos (filamentosos). Las levaduras son unicelulares y crecen en los agares en forma similar a las colonias bacterianas. Figura X-1. Los mohos en cambio están formados por micelios y estos a su vez por hifas. Figura X-2.

El estudio de los hongos en el laboratorio clínico siempre ha estado relegado, debido a que se consideraba agentes infecciosos de poca importancia clínica, sin embargo en los últimos 20 años, el número de infecciones por hongos se ha incrementado notablemente en parte por el

uso de corticoides, inmunosupresores, antibióticos, el SIDA, neoplasias, etc.^{2,3,4}. Este aumento de infecciones por hongos oportunistas ha determinado que los médicos estén más alerta frente a una sospecha de micosis, y también hay un incremento en la educación médica continua de esta área tan importante dentro de la microbiología. Por lo tanto los laboratorios asistenciales de microbiología deben estar en capacidad de aislarlos e identificarlos. Estos deben por lo menos ofrecer el servicio de cultivo de los géneros más comúnmente encontrados y estar en la capacidad de reconocerlos cuando se ven en los preparados de tinciones o frescos. Los hongos deben ser identificados hasta el nivel de especie, si no es posible hacerlo en el laboratorio es indispensable referirlo a un centro de referencia.

El diagnóstico de infecciones micóticas depende de la selección de las muestras clínicas apropiadas para cultivo. Los criterios para la toma y envío de muestras son los mismos que los que rigen para los estudios bacterianos, esto es de la recolección apropiada y rápido envío de las muestras al laboratorio. Las muestras pueden contener no sólo al agente causal, sino también una mezcla de diversas bacterias u hongos que pueden crecer más rápidamente que los hongos patóge-

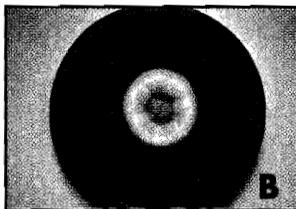


Figura X-1

A. Colonias de la levadura *Candida albicans*. B Colonia de mohos: *Histoplasma capsulatum*

nos que son de lento crecimiento. Debido a que puede producirse el crecimiento en exceso de estos otros microorganismos es importante que las muestras sean transportadas a la brevedad posible.

Cuando un cultivo de hongos está indicado el laboratorio debe ser notificado debido a que los medios de cultivos utilizados para las bacterias generalmente no son los adecuados para el crecimiento de los hongos, principalmente los dimórficos.

TOMA DE MUESTRAS PARA INFECCIONES MICÓTICAS SUPERFICIALES

Las micosis superficiales afectan a piel, pelo y uñas. Vea figura X-2. Los hongos involucrados pueden ser dermatofitos, *Malazzesia furfur* y *Candida albicans*. Para la toma de muestra de piel lampiña, proceda a limpiar la zona afectada con alcohol al 70% para eliminar los contaminantes bacterianos. Tome la muestra de los márgenes eritematosos, periféricos y con un crecimiento activo. Este tipo de lesiones se conocen como "tiñas". Puede colocarse en una caja Petri pequeña abierta debajo de la lesión de tal manera que las escamas caigan directamente al fondo de la caja. El raspado se realiza con un bisturí No 15. También se puede colocar entre dos portabjetos, se sellan con cinta adhesiva y se envían al laboratorio. En los sitios donde se acostumbra a enviar las muestras por correo (no común en América Latina) se pueden enviar las escamas en un sobre limpio.

En el caso de las micosis de las uñas conocidas como onicomicosis, la toma de muestra se realiza mediante un raspado de la zona dañada de la uña, también se puede cortar las uñas. Es importante tomar una muestra profunda, pues el hongo causante de la infección no se encuentra en la superficie de la uña. Vea figura X-3

Para la toma de muestra de lesiones en el cuero cabelludo, se puede proceder a realizar un raspado de la lesión al igual que en la toma de la piel lampiña, pero también se debe colectar con una pinza quirúrgica los pelos potencialmente enfermos. La lámpara ultravioleta de Wood puede ser útil para iluminar los pelos infectados por especies de dermatofitos que producen fluorescencia (*Microsporum audouinii*). Vea figura X-4.

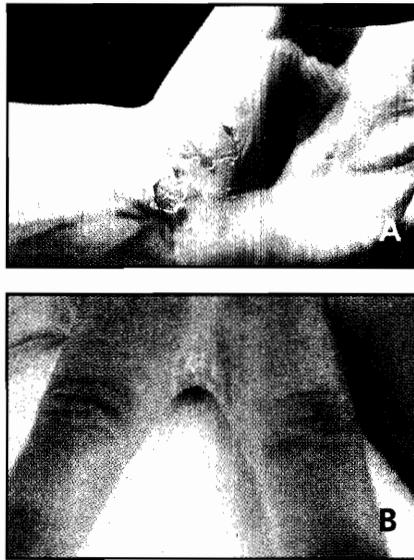


Figura X-2
A. Micosis superficial causada por dermatofito.
B. Micosis superficial causada por *Candida*.



Figura X-3
Toma de muestra de uña l de pie. A. Examine cuidadosamente el área afectada. B. Realice el raspado con un bisturí No. 15. Es importante llegar a la zona profunda.

Existe otra micosis de piel que no es causada por dermatofitos, sino por otra especie de hongo como es el dimórfico *Malazzesia furfur*. Este puede producir lesiones hipo e hiperpigmentadas en cara, cuello, tórax anterior y posterior, brazos en mayor frecuencia. Para estos casos se recomienda tomar la muestra con una cinta adhesiva. Colocar la cinta sobre la lesión presionar y luego despegar la cinta adhesiva. Pegarla a un portaobjetos y enviarla al laboratorio para su estudio con KOH. Vea figura X-5.

Tanto los pelos, las escamas de piel y uñas pueden ser estudiados para la búsqueda de hongos mediante KOH al

40% o mediante blanco de calcoflúor para el estudio de los hongos en directo⁵.

MICOSIS SUBCUTÁNEAS

Las micosis subcutáneas se presentan como lesiones supurativas, en forma de abscesos o tractos sinusales profundos como es el caso de los micetomas. Son lesiones crónicas, que pueden presentarse en forma verrugosa. El diagnóstico se realiza mediante la biopsia de la lesión. Esta biopsia debe enviarse en suero salino para microbiología y otra biopsia en formol al 10% para patología. Dado que en estas micosis están

implicados muchos hongos ambientales (vegetales, suelo) es importante que el patólogo observe el hongo en el tejido para confirmar su invasión. Se puede también tomar la muestra mediante la punción-aspiración en caso de procesos supurativos. NO PROCESAR HISOPADOS. Los micetomas también pueden ser causados por dos bacterias,

que debido a su forma ramificada se las consideró hongos hasta hace algún tiempo, estas bacterias son *Actinomyces* y *Nocardia*. La primera es anaeróbica por lo tanto las muestras de micosis subcutáneas, dependiendo del caso, deben también sembrarse para cultivos bacterianos anaerobios y aerobios.

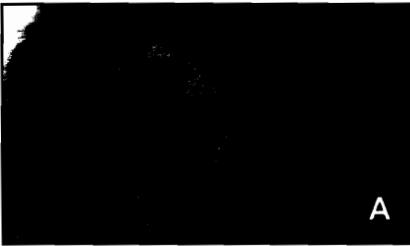


Figura X-4

Toma de muestra de lesión en cuero cabelludo. A. Examine cuidadosamente el área afectada. B. Realice un raspado de la lesión y colocar las escamas entre dos portaobjetos. C. Sellar con una cinta adhesiva para enviar al laboratorio. También es útil extraer pelos con una pinza y enviarlos.



Figura X-5

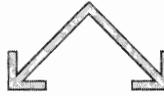
Lesiones hipopigmentadas de piel causadas por el hongo dimórfico *Malassezia furfur*.

ALGORITMO PARA LA TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE MICOSIS SUBCUTÁNEAS

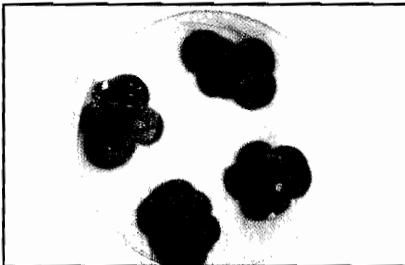
Toma de muestra de lesión mediante una biopsia



Enviar una muestra a microbiología (para cultivo)



Enviar una muestra a patología (para histología)



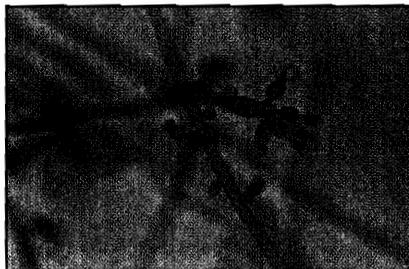
Está indicado colocar en el agar la biopsia triturada en cuatro puntos específicos. El hongo deberá crecer en estos puntos, si creciera fuera de ellos se considera contaminación.



Histopatología que demuestra los cuerpos cromatoides o "monedas de níquel"



IDENTIFICACIÓN DEL HONGO



Fonseca pedrosoi. La identificación del hongo se basa en la presencia de filídes en forma de botella. Montaje con azul de lactofenol.

MICOSIS PROFUNDAS

Las micosis profundas o sistémicas son aquellas en las cuales puede estar involucrados uno o varios órganos internos. Pueden ser infecciones asintomáticas hasta mortales. Las principales micosis sistémicas están causadas por hongos dimórficos y también se las conoce como micosis "americanas" por ser típicas casi exclusivas de esta zona geográfica como *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Blastomyces*, *Paracoccidioides*. Causan infección principalmente pulmonar y a veces el cuadro clínico es muy similar a una tuberculosis. Se adquiere a través de la inhalación de esporas de los hongos que son habitantes saprofitos del suelo. Otra micosis sistémica causada por una levadura es la criptococosis, causada por el *Cryptococcus neoformans* que produce sobre todo meningitis en pacientes con inmunodeficiencias profundas principalmente en pacientes con SIDA y pacientes con lupus eritematosos sistémico.

El diagnóstico de una micosis profunda, generalmente incluye un estudio histológico, tinciones, cultivos y estudios serológicos. Una muestra del tracto respiratorio puede ser adecuada pues suele ser el aparato más afectado, pero puede estar involucrado cualquier otro órgano y será

indispensable una biopsia del tejido afectado para la realización de los estudios correspondientes⁶. Vea la tabla X-1.

El diagnóstico de una micosis sistémica y la determinación del agente etiológico constituye un verdadero trabajo en equipo, en el que intervienen el clínico-quirúrgico, anatomopatológico, microbiológico y el de imagen

Vías respiratorias bajas

Las muestras para estudio pueden ser esputo, lavado bronquial, cepillado bronquial, aspirados traqueales, biopsias pulmonares. La muestra debe ser enviada en un recipiente de boca ancha con tapa rosca y que cierre herméticamente para que no se derrame en el transporte. Este tipo de muestras deben ser enviadas inmediatamente al laboratorio⁷. Figura .

Se realiza un estudio directo para observar hongos al microscopio mediante KOH al 40%, coloración Giemsa o calcoflúor. Posteriormente se procederá a sembrar en agar Sabouraud suplementado con cloranfenicol o con gentamicina y se incubará por una semana a 28°C. Si se sospecha de hongos dimórficos se procederá a sembrar en otros dos tubos: el ya mencionado y Agar Cerebro Corazón, se mantendrá por 30 días. Cuando

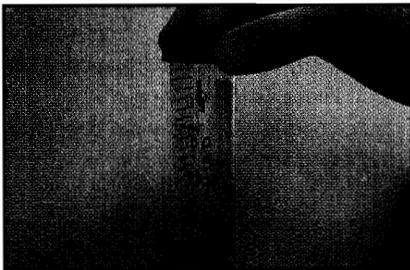
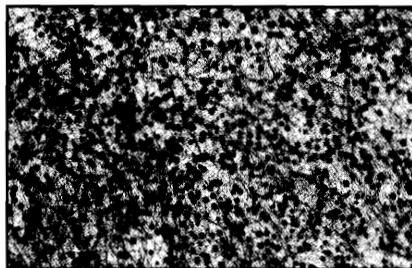


Figura X-6
La muestra de esputo debe ser enviada en un tubo boca ancha, tapa rosca, con cierre hermético para evitar derrames.

Figura X-7
 Montaje en azul de lactofenol de la
 forma de moho del ***Histoplasma***
capsulatum. Obsérvese la gran
 cantidad de esporas.



se haya obtenido crecimiento en cualquiera de ellos se da un pase a Sabouraud para analizar la morfología macroscópica de la colonia y realizar las diferentes pruebas bioquímicas para su identificación. Los hongos pueden ser levaduras y mohos. Los primeros se demoran en crecer 1 a 7 días, los mohos toman más tiempo entre 1 a 4 semanas. Para la identificación de las levaduras se realizan fermentación y asimilación de azúcares. Mientras que para los mohos hay que esperar que crezcan lo suficiente para obtener esporulación. Cuando han madurado lo suficiente se hace un montaje con azul de lactofenol para observar las conidias y lograr la identificación³. Vea figura X-7.

Pneumocytis jiroveci **(carinii) (PC)**

Es un organismo eucariote con tropismo por las superficies respiratorias de las células de mamíferos. Un centro debe estar en capacidad de identificar este hongo. Pero para ofrecer este servicio es importante conocer la edad de la población que asiste al hospital, que factores predisponentes tienen los pacientes que asisten, el número de pacientes con neumonía por PC y el número de médicos que

puedan realizar broncoscopias, pues de lo contrario es mejor referir a otro centro^{8,9}. Se considera un hongo por la ultraestructura de la pared, por la presencia de mitocondrias con disposición laminar (tubular) y por la presencia de cuerpos intraquísticos como ascosporas^{10,11}.

Las muestras respiratorias para investigación de hongos deben manipularse en el interior de una cabina de seguridad ya que son muestras que poseen microorganismos patógenos y que además pueden provocar aerosoles con facilidad. Las normas de utilización de la cabina de seguridad son las siguientes:

1. La luz ultravioleta (UV) se conectará 15 minutos antes de iniciar las manipulaciones
2. Una vez introducida la muestra en la campana se conecta el flujo laminar y se desconecta la luz UV
3. La muestra se manipulan con guantes y mascarilla
4. Finalizados los procedimientos, la campana debe quedar completamente vacía y se limpiarán las superficies con una solución de fenol
5. La campana se cierra y se conecta la luz UV durante 15 minutos.

Los hongos frecuentes implicados en vías respiratorias bajas son *Histoplasma*,

Coccidioides, *Blastomyces*, *Paraccocioides*, *Aspergillus*, *Candida* (casi nunca es causa de una franca NAC, aún en pacientes inmunocomprometidos), *Pseudallescheria boydi*, *Zygomycetos* y *Cryptococcus*^{12,13}.

Vías urinarias

Todos los hongos aislados de urocultivos provenientes de pacientes de UCI, UCI neonatal, unidad de quemados y unidad de transplantados deben ser identificados y reportados^{14,15}.

Hemocultivos

Las fungemias constituyen una infección cada vez más frecuente principalmente en pacientes inmunosuprimidos. Para la toma de muestra refiérase al capítulo XVI. El volumen de la muestra se considera actualmente una de las variables más críticas en el aumento de la positividad de los hemocultivos, no sólo para las bacteriemias sino también para las fungemias¹⁶. Por esto, es que las recomendaciones son obtener el máximo de volumen que la botella sea capaz de tolerar manteniendo la relación 1:5 a 1:10 entre la muestra y el volumen de medio de cultivo, esta dilución permite neutralizar las propiedades bactericidas de la sangre y de los agentes antibacterianos que puedan estar presentes en la muestra¹⁷. Dos a tres hemocultivos en un período de 24 horas, conteniendo un mínimo de 20 ml de sangre, están recomendados para la detección de la mayoría de fungemias. No se recomienda un solo hemo-

cultivo. El hecho de aislar hongos en un hemocultivo es significativo y no debe considerarse como una contaminación¹⁸.

En la actualidad el método de elección es el de lisis-centrifugación que recupera levaduras y hongos dimórficos. Sin embargo las levaduras también se recuperan a partir de sistemas automatizados de hemocultivos, pero requieren subcultivo en medios adecuados y una incubación prolongada¹⁹.

Para la detección del hongo dimórfico *Cryptococcus neoformans* en la sangre uno o dos hemocultivos de 10 ml de sangre usando el sistema de lisis centrifugación. Los hongos filamentosos como el *Aspergillus* son infrecuentemente cultivados de la sangre así la colección de sangre para su detección no realice de rutina. En las infecciones crónicas se requiere días o semanas para su detección, el número exacto y el tiempo de la toma no están establecidos.

Para las muestras de tejidos, médula ósea, efusiones referirse a los capítulos V y VI. Para el cultivo de LCR es muy importante la cantidad de líquido: 10 a 20 ml. Se debe cultivar toda la cantidad recolectada utilizando un filtro milipore (tamaño del poro de 0.45 µg). La membrana milipore es colocada aseptícamente es un medio de cultivo para hongos. Otra opción es centrifugar el LCR en una citocentrífuga y realizar las tinciones y los cultivos con el sedimento. Recuerde que el cultivo para hongos de LCR es una solicitud específica y no se debe sembrar de rutina en casos de meningitis.



Tabla X-1

Micosis sistémicas. Distribución geográfica y pruebas de laboratorio que pueden ser solicitadas

HONGO	ÁREA GEOGRÁFICA	TIPO DE MUESTRA Y PRUEBA DE LABORATORIO
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Endémico en los valles de los ríos Mississippi y Ohio	Esputo, lavado broncoalveolar, LCR, sangre, biopsia de piel para coloraciones y cultivo. Búsqueda de antígeno: Fijación de complemento: (<50%). Falsos positivos con <i>Histoplasma</i> Inmunodifusión: (80%) Búsqueda de anticuerpos: No se dispone de pruebas serológicas.
Coccidioides	Endémico en el suroeste de los USA (Valle de San Joaquín en California) en México y algunas zonas en América del Sur	Esputo, lavado broncoalveolar, biopsias para coloraciones y cultivo. Búsqueda de antígeno Precipitinas: Positivas en 1 a 3 semanas de la aparición de la enfermedad (80% positivas a las 2 semanas) Látex aglutinación: Es ligeramente más sensible que las precipitinas pero con un 6 y 10% de falsos positivos. Búsqueda de anticuerpos: ELISA, Inmunodifusión (IgG e IgM) Fijación del complemento (IgG), muy útil para LCR (> 90%)
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Distribución mundial. Los grupos de riesgo son: pacientes con leucemia aguda, terapia con corticosteroides, pacientes con SIDA y Hodking Tiene predilección por el tejido pulmonar y cerebral.	Líquido cefalorraquídeo y tejidos para coloraciones y cultivo. Biopsia de lesiones cutáneas. Búsqueda de antígeno Látex aglutinación. Es muy útil en la forma diseminada, puede usarse en LCR (85-90%) y en suero (30%) ELISA es más sensible que el látex. Tinta china en LCR (40-50%) Búsqueda de anticuerpos Anticuerpos no detecta en LCR y en suero puede dar falsos positivos
<i>Pneumocystis jiroveci (carinii)</i>	Distribución mundial, generalmente asociado a inmunodeprimidos	Esputo, esputo por inducción, lavado broncoalveolar para la búsqueda de antígeno mediante inmunofluorescencia No existe cultivo, ni serología
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Distribuido en toda América Latina a excepción de Belice, Nicaragua Surinam y Chile ²⁰ .	Esputo, Biopsia de lesiones cutáneas Serología

HONGO	ÁREA GEOGRÁFICA	TIPO DE MUESTRA Y PRUEBA DE LABORATORIO
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Endémica en los valles de los ríos Mississippi y Ohio. Endémica en la zona subtropical y tropical de los países de América Latina como Ecuador, Venezuela, Colombia, entre otros.	Para coloraciones y cultivo Cuadro pulmonar: Espudo, lavado broncoalveolar Histoplasmosis diseminada: sangre, médula ósea. Orina. Gastrointestinal: heces Biopsia de lesiones cutáneas Búsqueda de antígenos: Orina, suero, LCR, lavado broncoalveolar pero hay falsos positivos Búsqueda de anticuerpos Serología: Inmunodifusión y fijación del complemento La prueba de histoplasmina no es para diagnóstico
<i>Sporotrix schenckii</i>	Afecta a individuos en contacto con plantas, jardinería o susceptibles de lesiones con vegetales.	Biopsia de la lesión para cultivo y tinciones. Las pruebas serológicas: Látex Aglutinación en tubo Inmunofluorescencia (90%) Fijación del complemento (65%)
Otros hongos	<i>Aspergillus</i> , <i>Zygomycetos</i> . Hongos negros (dematiaceous) en pacientes inmunocomprometidos, diabéticos en cetoacidosis	Pruebas diversas. Comuníquese con el laboratorio

* Los valores entre paréntesis indican porcentajes de detección en los casos positivos

** Las solicitudes para este tipo de exámenes son esporádicas en la mayoría de los hospitales, por lo que es necesario enviarlas a un centro de referencia.

MICOSIS OPORTUNISTAS

Oportunista indica que se trata de infecciones causadas en pacientes con alteraciones en su sistema inmune. Aunque todos los hongos son oportunistas, este tipo de micosis se refiere a las infecciones micóticas que en condiciones normales del huésped no causarían enfermedad. Los hongos más frecuentemente implicados son *Candida*, *Aspergillus* y Mucorales. Estas han cobrado importancia, sobre todo en los pacientes transplantados, SIDA, oncológicos, neonatos, Diabéticos, uso de corticosteroides, etc.^{2,3,4}. Al igual que las micosis sistémicas, el diagnóstico de una micosis oportunista invasiva requiere de una evaluación histopatológica así como

de la realización de cultivo y de una estrecha comunicación entre el médico tratante y el microbiólogo²¹.

El diagnóstico de una infección micótica puede ser relativamente rápida y fácil como el caso de una meningitis criptocócica, en otros casos puede ser muy problemática como en aspergillosis invasiva^{22,23}. Los centros con vigilancia activa en programas de diagnóstico micológico se ha observado que ésta, ayuda a mantener la mortalidad baja, mientras que en áreas donde se demoran en el diagnóstico o no está considerado dentro de los estudios de rutina la mortalidad puede ser elevada. El laboratorio de microbiología de un hospital debe estar en capaci-



dad de cultivar para investigar micosis^{24,25,26} en los siguientes casos:

- Sitios estériles incluyendo sangre,
- Efusiones,
- Fluidos de diálisis peritoneal ambulatoria
- Líneas centrales.

Todos los hongos (levaduras y mohos) deben ser identificados hasta el nivel de especie, si esto no es posible enviarlo a un centro de referencia. La identificación de la especie se realiza por las siguientes razones:

1. Epidemiológicas.
2. Identificar una especie en particular como índice de una epidemia puntual.
3. Establecer el riesgo de contraer una infección micótica invasiva.
4. La interpretación de los resultados depende de la especie.
5. El tratamiento puede depender de la especie identificada.

En resumen para el diagnóstico de una infección por hongos envíe las muestras para los siguientes procesamientos:

1. Montajes directos

Muestras de piel pelo y uñas para estudios con hidróxido de potasio al 40% (Vea figura X-8) o blanco de calcofluor para el diagnóstico de dermatofitos, le-

vaduras y otros. También puede realizarse estos montajes directos en otro tipo de muestras como esputos, efusiones, secreciones y otros. Tinta china para *Cryptococcus* únicamente en LCR. Los montajes directos tienen el inconveniente que se requiere de personal experto en la técnica y puede ser que la muestra no contenga el hongo y se reporte como negativo. En algunos casos el montaje directo no permite distinguir entre una colonización e infección.

2. Coloraciones

Pueden ser útiles la coloración Gram y Papanicolaou. Giemsa o Wright. Las limitaciones de las coloraciones son similares al montaje directo.

3. Histopatológico

La biopsia del tejido se colorea con tinciones específicas para hongos como PAS (Periodic Acid-Schiff) o metenamina plata. La positividad de esta prueba dependerá de si la biopsia enviada contiene los hongos, depende del número de organismos presentes y de la técnica utilizada.

4. Cultivos

Permite el aislamiento del microorganismo y llegar a la identificación de género



Figura X-8
Escamas de piel. Obsérvese las
artrósporas. Montaje con KOH.

y especie. La recuperación depende de si se obtuvo el espécimen adecuado y si el hongo está aún viable cuando llegue al laboratorio. En el caso de infecciones sistémicas es muy difícil obtener una biopsia del área correcta. Los cultivos toman entre 2 a 4 semanas para poder ser identificados.

5. Pruebas serológicas

Hay varias pruebas de laboratorio. Lamentablemente hay un gran porcentaje de falsos negativos y una proporción menor de falsos positivos. Se debe utilizar un suero en fase aguda y otro en fase de convalecencia.

6. Detección de antígenos

Existen varias pruebas. Envíe a un laboratorio de referencia.

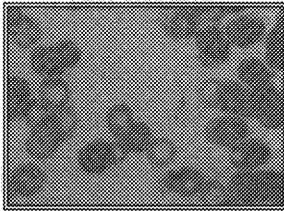
7. Pruebas de piel

La ventaja de estas pruebas: histoplasmina, coccidioidina, etc es que los resultados pueden estar en 24 a 48 horas pero necesita un tiempo para que el individuo haya desarrollado anticuerpos y pueden haber resultados falsos negativos, además que pueden alterar las pruebas serológicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Schell WA. New aspects of emerging fungal pathogens: a multifaceted challenge. *Clin Lab Med* 1995;15:365-87.
- Vartivarian SE, Anaissie EJ, Bodey GP. Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: classification, diagnosis, and management. *Clin Infect Dis* 1993;17(suppl 2):S487-91.
- Krcmery Jr. V, Kunova E, Jesenska Z, et al. Invasive mold infections in cancer patients: 5 years' experience with *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium* and *Acremonium* infections. *Support Care Cancer* 1996;4:39-45
- Anaissie E, Bodey GP, Kantarjian H, et al. New spectrum of fungal infections in patients with cancer. *Rev Infect Dis* 1989;11:369-78.
- Hageage GJ and Harrington BJ. Use of calcofluor white in clinical mycology. *Lab Med* 1984;15:109-112
- Larone D. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd edition Washington: ASM Press; 1995.
- Hariri AR, Hempel HO, Kimberlin CL and Goodman NL. Effects of time lapse between sputum collection and culturing on isolation of clinically significant fungi. *J. Clin Microbiol* 1982;15:425-428
- Burke BA, Good RA. *Pneumocystis carinii* infection. *Medicine* 1973;52:23-51.
- Hughes WT. *Pneumocystis pneumonia*: a plague of the immunosuppressed. *Johns Hopk Burke BA, Good RA. Pneumocystis carinii infection. Medicine* 1973;52:23-51.
- Edman JC, Kovacs JA, Masur H, Santi DV, Elwood HJ, Sogin ML. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature* 1988;334:519-22.
- Stringer SL, Stringer JR, Blaser MA, Walzer PD, Cushion MT. *Pneumocystis carinii*: sequence from ribosomal RNA implies a close relationship with fungi. *Exp Parasitol* 1989;68:450-61.
- Saubolle MA: Fungal pneumonias. *Semin Respir Infect* 2000;15:162-177

13. Thompson RB Jr, Roberts GD. A practical approach to the diagnosis of fungal infections of the respiratory tract. *Clinics in Lab Med.* 1982;2:321-342
14. Fisher JF, Chew WH, Shadomy S, et al. Urinary tract infections due to *Candida albicans*. *Rev Infect Dis* 1982;4:1107-118
15. Goldberg, PK, Kozinn PJ, Wise GJ, et al. Incidence and significance of candiduria. *J Am Med Assoc* 1979;241:582-584
16. Telenti A, and Robert GD. Fungal blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989;8:825-831
17. Reimer LG., Wilson ML and Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997;10:444-465.
18. Weinstein MP., Towns ML., Quarley SM et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin. Infect. Dis.* 1997; 24:584-602.
19. Geha DJ, Roberts GD. Laboratory detection of fungemia. *Clin. Lab. Med.* 1994;14:83-97
20. Wake B, Landero AT. Epidemiology and paracoccidioides infection. In: Franco M, Lacaz CS, Restrepo A. Del Negro eds. *Paracoccidioides*. Boca Raton Fla. CRC. Pres. 1994:109-120
21. Cook NB: Opportunistic fungal infections in the immunocompromised host, *Clin Lab Sci* 5:280, 1992.
22. Musial CE, et al: Fungal infections of the immunocompromised host: clinical and laboratory aspects, *Clin Microbiol Rev* 1:349, 1988.
23. Fraser DW, Ward JJ, Ajello L, Plikaytis BD. Aspergillosis and other systemic mycoses: the growing problem. *JAMA* 1979;242:1631-5.
24. Bren A. Fungal peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:839-43.
25. Robertson MH. Fungi in fluids: a hazard of intravenous therapy. *J Med Microbiol* 1970;3:99-102.
26. Rippon JW. *Medical mycology: the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes* 3rd ed W. B. Saunders Co., Philadelphia. 1988



XI. INFECCIONES PARASITARIAS EXTRAIESTINALES



Los parásitos extraintestinales incluyen esporozoos, nematodos, cestodos y flagelados. Afectan la piel ocasionando úlceras como el caso de la *Leishmania sp.*, y microfilarias o pueden afectar al tejido muscular como *Trichinella spiralis*, bazo e hígado como el *Echinococcus spp* o pulmones como el *Paragonimus westermani*. También hay parásitos como *Microsporidium* y *Acanthamoeba*, que pueden causar queratitis. El sistema urogenital puede estar afectado por *Trichomonas vaginalis* y *Schistosomas sp* y el sistema nervioso central por *Taenia solium* (cisticercos) *Echinococcus sp.*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba*, *Toxoplasma gondii* y *Trypanosoma sp*. Los parásitos que afectan el tejido sanguíneo se encuentra en la tabla XI-1.

Cuatro especies producen enfermedad de en los seres humanos, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. falciparum* y *P. ovale*. También puede ser transmitido a través de transfusiones sanguíneas, accidentes de laboratorio y muy excepcionalmente como una infección nosocomial. Después del periodo de incubación de 7 a 14 días, se presenta fiebre diaria, terciaria o cuaternaria que puede no responder a antipiréticos, acompañada por dolor de cabeza, sudoración y falta de apetito. El diagnóstico se realiza a través del examen microscópico de sangre de la persona que haya visitado o radique en zona endémica con síntomas característicos de la enfermedad¹.

TOMA DE MUESTRA PARA DIAGNÓSTICO DE MALARIA

La malaria es una enfermedad tropical transmitida por el mosquito *Anopheles* que al picar infecta al ser humano y otros mamíferos con el protozooario coccideo *Plasmodium*, microorganismo microscópico que se alberga en glóbulos rojos y en células del hígado.



Figura XI-1
Trofozoitos de *Plasmodium vivax*

Tabla XI-1

Parásitos que infectan sangre y sus componentes

TEJIDO	PARÁSITO
SANGRE	
Glóbulos rojos	<i>Plasmodium sp</i> <i>Babesia sp</i>
Glóbulos blancos	<i>Leishmania donovani</i> <i>Toxoplasma gondii</i>
Sangre total/plasma	<i>Trypanosoma sp</i> <i>Microfilaria</i>
Médula ósea	<i>Leishmania donovani</i>

TOMA DE LA MUESTRA

En los países en donde la Malaria es endémica, la norma de toma de muestra y transporte suelen estar reguladas por el Servicio Nacional de Malaria, sin embargo es necesario que el personal de laboratorio de un hospital esté preparado para la toma de muestra, transporte y procesamiento de las muestras. Los frotis deben ser evaluados por personal experimentado. Debido a la simplicidad, bajo costo, el estudio de los frotis sanguíneos sigue siendo el método más utilizado¹. Para la toma de muestra:

1. Desinfecte con alcohol la zona a puncionar y deje que actúe el alcohol por 1 minuto.
2. Seque con una torunda de algodón.
3. Realice una punción con una lanceta estéril, en la zona lateral del dedo medio o pulgar de la mano izquierda. La primera gota de sangre se descarta, luego se obtienen 2 gotas de sangre las que se depositan en la superficie de una lámina portaobjeto; con una de las láminas se prepara la gota gruesa que sirve para detectar la presencia del *Plasmodium* y con la otra gota se prepara el frotis de sangre para identificar la especie de *Plasmodium* encontrada.
4. Registre en las láminas el nombre del paciente.

La lectura de las láminas se realiza con el objetivo de inmersión del microscopio y los resultados de la densidad parasitaria se determinan luego de examinar 100 campos en el frotis de gota gruesa y se informan a través del sistema de "cruces". En estos frotis de gota gruesa los glóbulos rojos se lisan así que el diagnóstico se basa en la presencia del parásito, mientras que en el frotis extendido se conserva la estructura del glóbu-

lo rojo y podemos observar la morfología del parásito.

La especie de *Plasmodium* identificada se informa por sus iniciales:

Plasmodium vivax (V)

Plasmodium falciparum (F)

Plasmodium malariae (M)

SISTEMA CRUCES	NÚMERO DE PARÁSITOS
+	1 - 10 parásitos por 100 campos de un frotis gota gruesa
++	11 - 100 parásitos por 100 campos de un frotis de gota gruesa
+++	1 - 10 parásitos por campo de un frotis de gota gruesa
++++	Más de 10 parásitos por campo de un frotis de gota gruesa

Las formas del parásito y los gametocitos de *P. falciparum* se indicarán como sigue:

F : Anillos solamente.

Fg : Gametos solamente.

F y Fg : Anillos y gametos.

En los casos de *P. falciparum* es importante para la valoración clínica de gravedad el índice de parasitemia por microlitro (µl) de sangre para lo cual se puede realizar el siguiente cálculo:

- a. Después de contar 200 leucocitos registre el número de parásitos que identificó durante este recuento.
- b. Después de contar 500 leucocitos registre el número de parásitos que identificó durante este recuento.
- c. En cada caso el recuento de parásitos en relación con los leucocitos puede ser convertido a parásitos por µl por la simple fórmula matemática:

$$\frac{\text{No. de parásitos} \times 8000}{\text{No. de leucocitos}} = \text{No de parásitos por } \mu\text{l}$$

8000 leucocitos por µl es tomado como el



número estándar que un paciente puede tener, pero si se dispone del número exacto del número de leucocitos del paciente se puede multiplicar por éste.

Esto significa que si se cuentan 200 leucocitos el número de parásitos se multiplica por 40 y si se cuentan 500 leucocitos se multiplicarán por 16

Ejemplo: Si se cuentan 18 parásitos en 200 leucocitos de recuento

$$\frac{18 \times 8000}{200} = 720 \text{ parásitos } /\mu\text{l}$$

Los pacientes que presentan hiperparasitemia con recuentos $>100000/\mu\text{l}$ tienen un alto índice de mortalidad, y aquellos con recuentos $>500000/\mu\text{l}$, la mortalidad es mayor. Independientemente de la parasitemia, el pronóstico es peor si más del 20% de parásitos contienen pigmento visible y es mejor el pronóstico si más del 50% de parásitos están en el estado de anillos.

Otras pruebas diagnósticas para malaria son: inmunofluorescencia indirecta, ELISA, hemaglutinación indirecta, fijación de complemento, hibridización del ADN y PCR. Existen pruebas rápidas con alta especificidad y sensibilidad como Para Sight[®]F².

LEISHMANIASIS

La *Leishmania donovani* es un parásito del sistema mononuclear fagocítico, en algunos países es una importante causa de infección en los pacientes con SIDA. El diagnóstico requiere la demostración de la presencia de *Leishmania* ya sea por examen microscópico, realizando una tinción de Giemsa, a partir de las muestras obtenidas de médula ósea, de una biopsia de ba-

zo de una adenopatía o bien por cultivo. El cultivo también es especial. El medio clásico es el NNN, al cual hay que añadir una tercera parte de su volumen de sangre desfibrinada de conejo. Es algo engorroso de preparar y fácil la contaminación del mismo. Otros medios útiles son el medio *Drosophila* de Schneider al que se añade suero fetal bovino a una concentración del 30% o bien MEM (Eagle minimal essential medium) al que también se le adiciona suero fetal bovino. Se inoculan dos o tres gotas de la muestra por tubo de medio preparado y se deja a temperatura ambiente durante 1 mes. La lectura se realiza un examen microscópico del medio de cultivo colocando una gota entre porta y cubreobjeto al tercer día y una vez por semana.

TOMA DE MUESTRA

El diagnóstico de Leishmaniasis se efectúa mediante la búsqueda del parásito o a través de métodos inmunológicos³. Las pruebas parasitológicas se basan en la presencia de leishmanias, único criterio de certeza de infección. Se efectúa mediante un examen microscópico directo en muestras tomadas de las lesiones sospechosas mediante raspado, aspirado o impronta identificando leishmanias por tinción o mediante cultivo de éstas. Las pruebas inmunológicas se basan en la demostración de la infección mediante la prueba de Montenegro, que consiste en demostrar positividad a la intradermo-reacción mediante la aplicación de antígenos de leishmania muertos. Las pruebas serológicas se basan en la demostración de anticuerpos circulantes anti-Leishmania de los casos probables.

En el diagnóstico de la leishmaniosis tegu-



Figura XI-3.
Lesiones cutáneas en hombro producidas por **Leishmania**. Para la toma de muestra se deben retirar las costras.

mentaría la obtención de las muestras debe ser efectuada a partir de lesiones activas de la piel o mucosas, teniendo en cuenta que, en las típicas lesiones ulceradas, ésta debe realizarse en los bordes de la lesión o en el fondo de la úlcera, después de eliminar la zona superior necrosada. Esta toma de muestras puede realizarse por varios métodos:

1. mediante un simple raspado de la lesión;
2. efectuando incisiones del borde de la úlcera algunos milímetros hasta alcanzar la dermis y efectuar un raspado;
3. aspiración con aguja, biopsia con aguja o mediante biopsia de todo el espesor con un *punch*.

Para la toma de la muestra proceda de la siguiente manera:

1. Elija la lesión con menor tiempo de evolución y menor infección agregada.
2. Desinfecte el borde de la lesión con alcohol al 70% y agua oxigenada.
3. Presione con firmeza el borde elegido. Con una hoja de bisturí haga una pequeña incisión en el lado interno; seque la sangre con gasa y raspe el tejido.
4. Con el material obtenido en la hoja de bisturí, haga el frotis en una lámina, procurando que éste sea delgado.
5. Dejar secar la lámina al medio ambiente.
6. El frotis puede realizarse también con líquido tisular obtenido con micropipeta o con material de biopsia (tejido).

En el caso de la leishmaniasis visceral, la sensibilidad del examen directo varía en función del producto patológico escogido para efectuar el diagnóstico. Si bien la punción esplénica sería la elegida por su elevada sensibilidad (95%), dada la localización preferencial de los parásitos en el bazo, suele dejarse como último recurso por los riesgos asociados. Así, el método más utilizado, tanto por su facilidad y seguridad de ejecución como por su sensibilidad (52-70%), es el aspirado de médula ósea, realizado por punción esternal en los adultos y de cresta ilíaca en los niños. En individuos inmunodeprimidos esta prueba presenta una sensibilidad entre un 78-94% durante el primer episodio y menor al 64% en las recaídas. El parásito también puede buscarse en la sangre periférica o en la capa de leucocitos, hígado, tracto gastrointestinal, nódulos linfáticos, líquido pleural, etc.⁴ El cultivo tiene una sensibilidad (85%) mayor a la observación del frotis teñido (60%).

ENFERMEDAD DE CHAGAS

La enfermedad está limitada a América con una distribución geográfica amplia en las zonas rurales de México, América Central y del Sur, es endémica en algunas de estas zonas. Es un padecimiento parasitario crónico causado por *Trypanosoma cruzi* y transmitido al ser humano y otros mamíferos



por la contaminación con heces de la chinche *Triatoma*, conocida vulgarmente como chinche hocicona o chinche trompada o chinche de trompa cónica o besadoras, principalmente de los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*. Los insectos defecan durante la succión de la sangre y el rascado favorece el ingreso del parásito a través de la piel por la picadura.

La transmisión también puede producirse por transfusión de sangre, trasplantes de órganos, también pueden cruzar la placenta para producir infección congénita, también pueden ocurrir infecciones accidentales en el laboratorio⁵.

TOMA DE MUESTRA

El observar los parásitos en un frotis sanguíneo puede ser un hallazgo casual en la fase aguda. El método más utilizado para diagnóstico es la búsqueda de anticuerpos en suero.

TOXOPLASMOSIS

Es una enfermedad sistémica causada por el protozoo coccidio *Toxoplasma gondii*. Las infecciones en los individuos inmunocompetentes por lo general son asintomáticas o surgen en la forma de un cuadro agudo que comprende únicamente linfadenopatía o un cuadro semejante a mononucleosis infecciosa con fiebre, linfadenopatía y linfocitos que persisten durante semanas. Al contrario, en los individuos inmunodeprimidos, los quistes tisulares pueden reactivarse y causar encefalitis, coriorretinitis, neumonía, afectación generalizada de los músculos estriados, miocarditis, erupción maculo-

popular y muerte. La infección primaria en el embarazo puede ocasionar la infección del feto, causar coriorretinitis, lesión cerebral con calcificaciones, hidrocefalia, microcefalia, fiebre, ictericia, erupción cutánea, hepatoesplenomegalia, LCR xantocrómico y convulsiones que se manifiestan al momento del nacimiento o poco después. Si la madre se infecta en una etapa posterior del embarazo, la infección producirá en el feto una enfermedad leve o subclínica que se manifestará como coriorretinitis crónica o recurrente. En los individuos con SIDA, la toxoplasmosis cerebral es una manifestación frecuente⁶.

TOMA DE MUESTRA

El diagnóstico se basa en los estudios serológicos, para ello se toma una muestra de sangre y se realiza titulaciones de IgG, IgM e IgA esta última muy útil durante el embarazo. Los niveles elevados de IgG pueden persistir durante años sin relación con la enfermedad activa⁷. Vea capítulo XVII. También es útil la PCR, hay varias sondas y se puede realizar en suero, LCR, líquido amniótico, fluido acuoso, lavado broncoalveolar y en ciertos tejidos⁸. Los estudios histopatológicos suelen ser útiles, la inmunohistoquímica en busca del antígeno es el más útil y simple.

TRIQUNOSIS

Es una enfermedad causada por un vermes intestinal redondo cuyas larvas emigran a los músculos y quedan encapsuladas en ellos. Las manifestaciones clínicas pueden ser muy variables, y puede presentarse como una infección asintomática hasta una

Tabla XI-2

Parásitos que afectan a los diversos tejidos.

PIEL	SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	HÍGADO Y BAZO	PULMÓN	TRACTO UROGENITAL	MÚSCULO	OJO
<i>Leishmania spp</i>	<i>Taenia solium (cisticerco)</i>	<i>Echinococcus</i>	<i>Paragonimus sp</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Onchocerca volvulus</i>	<i>Acanthamoeba</i>
<i>Microfilaria</i>		<i>Leishmania donovani</i>		<i>Schistosoma sp</i>	<i>Taenia solium (cisticerco)</i>	<i>Microsporidum</i>
	<i>Naegleria fowleri</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>			<i>Trichinella spiralis</i>	
	<i>Acanthamoeba/Hartmannella sp</i>					
	<i>Toxoplasma gondii</i>					
	<i>Trypanosoma sp</i>					

enfermedad fulminante y mortal según el número de larvas ingeridas⁹.

se ubican en ojos, sistema nervioso central y corazón.

TOMA DE MUESTRA

El diagnóstico se basa en la presencia de eosinofilia intensa y la serología. Los anticuerpos son detectados a las 3 semanas. El "skin test" dura muchos años, por lo que no es útil para fase aguda. Ayuda al diagnóstico la toma de una biopsia del músculo estriado obtenido 10 días después de la infección. La sensibilidad de la biopsia incrementa luego de 4 a 5 semanas de la infección.

TOMA DE MUESTRA

Los estudios serológicos tipo ELISA han sido cuestionados¹⁰ por lo que suelen ser de mayor utilidad el ultrasonido, la tomografía axial computarizada, resonancia magnética o radiografía cuando los cisticercos se calcifican.

CISTICERCOSIS POR TAENIA SOLIUM

Cuando un individuo ingiere los huevos o proglófitos de la tenia del cerdo, los huevos eclosionan en el intestino y las larvas emigran a los tejidos subcutáneos, músculos estriados y otros tejidos y órganos vitales donde forman quistes (cisticercos). Las consecuencias pueden ser graves si estas larvas

ONCOCERCOSIS

Es una enfermedad crónica no mortal causada por una filaria que forma nódulos fibrosos en los tejidos subcutáneos, particularmente en la cabeza y los hombros (América) o en la cintura pelviana y las extremidades inferiores (Africa). Los vermes adultos se encuentran en esos nódulos, que son superficiales y también pueden ser más profundos afectando el perioste de los huesos o cerca de las articulaciones¹¹.



TOMA DE MUESTRA

El diagnóstico del laboratorio se hace por la demostración de las microfiliarias por medio del examen microscópico de material fresco obtenido por biopsia de la piel superficial, después de incubación en agua o solución salina; por la presencia de microfiliarias en la orina, o al extirpar los nódulos y detectar los vermes adultos. En las zonas endémicas se debe diferenciar las microfiliarias de otras enfermedades por filarias. Otros signos diagnósticos comprenden las manifestaciones oculares como la observación de microfiliarias en la cornea, la cámara anterior del ojo o el humor vítreo, utilizando una lámpara de hendidura.

BIBLIOGRAFÍA

1. Shute, GT. The microscopic diagnosis of malaria. In: Wernsdorfer WH, McGregor I, eds. *Malaria: Principles and Practice of Malariology*. London: Churchill Livingstone. 1988; 1:781-814.
2. Shift, CJ, Minjas J, Premji J. The Para Sigh[®]F Test: Simple Rapid Manual Dipstick Test to Detect *Plasmodium falciparum* Infection. *Parasitol today*. 1994; 10:494-495.
3. Palma G, Gutiérrez Y. Laboratory Diagnosis of Leishmaniasis. *Clin Lab Med*. 1991; 11:909-922.
4. Chulay JD. Leishmaniasis In: *Hunters' Tropical Medicine*. Philadelphia. WB Saunders; 1991: 638-655.
5. Tanowitz HB, Kirchhoff LU, Simon D, et al. Chagas' Disease. *Clin Microbiol Rev*. 1992; 5:400-419
6. Wong SY, Israelski DM, Remington JS. AIDS-Associated Toxoplasmosis. In: Sande MA, Wofberding PA eds. *The Medical Management of AIDS*. 4th ed. Philadelphia WB Saunders; 1995: 460-493.
7. Demon G, Remington JS. Direct Agglutination Test for Diagnosis of Toxoplasma Infection: Method for Increasing Sensitivity and Specificity. *J Clin Micro* 1980; 11:562-568.

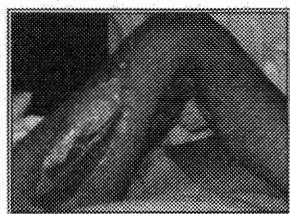
TRICOMONIASIS

Es una enfermedad del aparato genitourinario causado por un protozooario flagelado *Trichomonas vaginalis*.

TOMA DE MUESTRA

Ver capítulo XIX. El diagnóstico se hace por identificación del parásito móvil por estudio microscópico de secreciones vaginales o por cultivos que es la técnica más sensible. Las tricomonas se identifican también a través de un frotis de Papanicolaou¹².

8. Hohlfeld T, Daffos F, Costa JM, et al. Prenatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis with a Polymerase-Chain-Reaction Test on Amniotic Fluid. *N Engl J Med*. 1994; 331:695-699
9. Grove DI. Tissue Nematodes (Trichinosis, Dracunculiasis, Filariasis) In: Gl Mandell, RG Douglas, JE Bennett eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 3rd ed New York: Churchill Livingstone. 1990: 2140-2141
10. Ramos-Kuri M, Montoya RM, Padilla A et al. Immunodiagnosis of Neurocysticercosis. Disappointing Performance of Serology (Enzyme-Linked immunosorbent assay) in an unbiased sample of neurological patients. *Arch Neurol*. 1992; 49:633-636
11. McCarty JS, Ottesen EA, Nutman TB. Onchocerciasis in endemic and nonendemic population: difference in clinical presentation and immunologic findings. *J Infect Dis* 1994; 170:736-741.
12. Fouts AC, Kraus SJ. *Trichomonas vaginalis*: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J Infect Dis* 1980; 141:137-143.



XII. SISTEMA MÚSCULO ESQUELÉTICO

Mariù Mestanza Perolia. Reumatóloga

BEST AVAILABLE COPY



ARTICULACIONES

Los huesos humanos se unen en diversas formas a través de las articulaciones para proporcionar los requerimientos funcionales del sistema musculoesquelético. Los músculos, tendones, ligamentos, cartílagos y huesos comparten el trabajo para asegurar un funcionamiento adecuado.

Las articulaciones pueden clasificarse de acuerdo a su movimiento, en: **sinartrosis**, que describe a las suturas del cráneo; en la **anfiartrosis** en la cual la articulación está unida por tejido fibroso, por ejemplo la sínfisis del pubis y sacroilíaca; una variedad con mayor movilidad es la **anfiartrodial** que se encuentra en la columna vertebral. Las **diartrosis** son articulaciones muy móviles y es el patrón articular más frecuente; estas articulaciones poseen membrana sinovial y contienen líquido sinovial por lo que también se conocen como articulaciones sinoviales.

La cavidad articular es un espacio de presión negativa que está limitado por las superficies articulares que a su vez se encuentran recubiertas por cartílago y por la membrana sinovial¹.

El líquido sinovial se encuentra normalmente en pequeñas cantidades en el espacio articular. Este líquido es un ultrafiltrado del plasma al que las células sinoviales de tipo β le agregan el ácido hialurónico, que le confiere su viscosidad característica. En condiciones normales el líquido sinovial es claro, transparente, con una consistencia similar a la clara de huevo y contiene aproximadamente 300 células por ml^2 .

Actúa como lubricante, elemento nutritivo y depurador de los productos de desechos celulares. Cuando el líquido articular aumenta de volumen, la presión intra-articular de reposo se vuelve positiva (10 a 20 mmHg), lo que distiende la cápsula articular y elonga las estructuras ligamentosas conduciendo a inestabilidad articular².

ARTRITIS SÉPTICA

La artritis séptica constituye la enfermedad articular que más rápidamente destruye la articulación. Se caracteriza por tener dolor articular moderado a grave, de inicio rápido (horas o pocos días), aumento local de la temperatura, dolor a la presión y limitación importante del movimiento e impotencia funcional, en un paciente que puede o no tener otros síntomas de enfermedad sistémica⁴. La mayoría de las artritis sépticas afectan a una sola articulación (monoarticular), pero en un 15 a 20% de los casos afectan más de cuatro articulaciones (poliarticulares). En la artritis séptica monoarticular, los sitios más frecuentes son la rodilla (40 a 50%), la cadera (13 a 20%) y el hombro (10 a 15%); las articulaciones pequeñas de muñeca, mano y pie se afectan en un 5 a 10%⁵.

Es especialmente importante en la artritis monoarticular la diferenciación con una amplia variedad de otras posibles causas⁶.

Las bacterias pueden alcanzar la articulación por diferentes vías: por inoculación directa, como en el caso de traumatismos, cirugía o artrocentesis (con inyección de corticoides)⁷; por migración de focos con-

tiguos de infección de tejidos blandos, osteomielitis y prótesis infectadas⁸ y también por vía hematogena desde focos lejanos de infección.

Los factores de riesgo más importantes que se han identificado para el desarrollo de artritis séptica, son: edad mayor de 80 años, presencia de artritis reumatoide o diabetes mellitus, prótesis de cadera o rodilla, otras cirugías articulares o infecciones de la piel⁹.

El *Staphylococcus aureus* es la causa más común de artritis séptica y constituye el 80% de todas las infecciones a este nivel. *Neisseria gonorrhoeae* es otro patógeno implicado, y en los niños es frecuente el *Haemophilus influenzae*. También pueden ser responsables de artritis séptica el *S. pyogenes*, *S. agalactiae* y otros.

Los agentes etiológicos de la artritis en pacientes que tienen una prótesis son totalmente diferentes, si bien el agente implicado frecuentemente es el *Staphylococcus epidermidis*, otros como *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, pueden también producir infección. El *Staphylococcus aureus* continúa siendo un patógeno importante en este grupo de pacientes¹⁰.

LÍQUIDO SINOVIAL

El análisis del líquido sinovial debe ser realizado como parte de la evaluación diagnóstica en cualquier paciente que se presente con aumento de volumen de una articulación^{11,12}. El líquido obtenido puede tener una apariencia turbia, ser purulento o serosanguinolento (10 a 20%), el coágulo

de mucina es pobre, el número de leucocitos sobrepasa los 50.000 por mm³, con predominio importante de polimorfonucleares (>75%); el número de leucocitos puede ser bajo en las primeras 72 horas pero es mayor 12 a 48 horas después¹³. El análisis adicional de glucosa, proteínas o LDH, tiene mucha variabilidad y es de poca ayuda¹⁴.

Estudios de control de calidad han demostrado que, de los diferentes aspectos a examinar en el líquido sinovial, la apariencia del líquido, el recuento celular, la identificación de cristales y de microorganismos, constituyen los únicos elementos que pueden modificar un diagnóstico clínico inicial¹⁵.

El diagnóstico definitivo de una artritis séptica puede ser hecho solamente con la visualización de la bacteria con una coloración de Gram o con un cultivo positivo

TOMA DE MUESTRA

La toma de la muestra debe ser realizada por una persona entrenada y en estrictas condiciones de esterilidad. La técnica varía según la articulación (se recomienda revisar la referencia 15), el objetivo es llegar al espacio articular. Las siguientes pautas pueden ser de ayuda:

1. Identifique el área a puncionar.
2. Palpe el área y presione con la punta de un bolígrafo dejando huella.
3. Limpie cuidadosamente con una solución jabonosa y con povidona yodada.
4. Coloque un campo estéril.
5. Realice la punción.

Tabla XII-1

Sensibilidad de las pruebas microbiológicas utilizadas para el diagnóstico de artritis bacteriana y tuberculosa

PRUEBA MICROBIOLÓGICA	SENSIBILIDAD
Coloración de Gram:	
<i>Staphylococcus aureus</i>	75%
Bacilos Gram negativos	50%
Gonococo	< 25%
Coloración Ziehl Neelsen	20%
Cultivos de líquido articular*	90%
Cultivos para <i>Mycobacterium</i>	80%
Cultivo de biopsia de membrana sinovial	90%

* En artritis gonocócica la sensibilidad es < 50%

La persona que realice la punción debe estar con guantes y permanecer con ellos hasta que complete el procedimiento. La anestesia local con lidocaína no es muy recomendable porque aumenta los materiales a utilizar, prolonga el procedimiento y puede ser dolorosa. Se podría utilizar anestésico tópico en aerosol o crema. En todo caso, la anestesia local no interfiere con la recuperación bacteriana¹⁶.

En condiciones ideales se recolectan entre 5 a 10 ml de líquido articular que serán repartidos en tres tubos, que deben identificarse correctamente:

Tubo 1. Para el estudio citológico se colocan uno o dos ml en un tubo con heparina (es suficiente mojar la jeringuilla con la heparina).

Tubo 2. Para la investigación de cristales es preferible enviar el líquido sinovial en la jeringa desechable con un tapón de goma o en un tubo estéril sin anticoagulante.

Tubo 3. Para el estudio bacteriológico el líquido debe ser colocado en un tubo estéril. Debido a que es un material purulento, el riesgo de coagulación es mínimo, por lo que no se requiere en el caso de un líquido articular purulento la colocación de anticoagulantes. Debe cultivarse para aerobios y anaerobios y si existe sospecha de infección por gonococo es preferible realizar la siembra directamente en el medio de agar chocolate o de Thayer Martin.

Todos los tubos son estériles.

Tubo 1: con heparina para citología.

Tubo 2: sin anticoagulante para cristales.

Tubo 3: sin heparina para bacteriología.

Si el líquido es turbio y purulento sembrar directamente en los medios respectivos y a todos realizar coloración de Gram. Si se sospecha hongos realizar KOH o calco-flúor y si se sospecha mi-

cobacterias realizar tinción Ziehl Neelsen; debido a que la visualización del bacilo alcohol ácido resistente es pobre en este tipo de efusión, es recomendable cultivar una biopsia de membrana sinovial o realizar una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) del líquido articular. La sensibilidad de las pruebas microbiológicas utilizadas para el diagnóstico de artritis bacteriana y tuberculosa, se encuentran en la tabla XII-1.

Se ha sugerido que el utilizar medios enriquecidos, como el que se encuentra en las botellas de hemocultivos, incrementa la recuperación de las bacterias en artritis séptica. Sin embargo al estudiar la eficacia de tres métodos: cultivo convencional en agar, cultivo con lisis-centrifugación y caldo de enriquecimiento no se encontró diferencia significativa entre ellos, por lo que se concluye que la siembra y recuperación de bacterias de una artritis séptica en un medio enriquecido no incrementa la frecuencia de aislamientos¹⁷.

Con cierta frecuencia solamente se obtienen unas pocas gotas de líquido sinovial que quedan retenidas en la aguja. Esta pequeña cantidad de líquido puede ser suficiente para realizar una tinción de Gram, una preparación en fresco para la investigación de cristales y cultivo¹⁵.

El líquido articular es una muestra que se considera "urgente", es decir que un informe preliminar de la coloración de Gram debe ser reportado dentro de 30 minutos a 1 hora al médico tratante, independientemente de la sala en que esté hospitalizado el paciente. El informe preliminar del crecimiento del microorganismo debe ser reportado vía telefónica lo más rápido posible¹⁸.

- *La artritis séptica es una urgencia médica.*
- *El líquido articular se toma a través de una aguja de aspiración con jeringuilla.*
- *Todos los tubos deben tener su identificación. El tubo de bacteriología puede ser reemplazado por una botella de hemocultivo para aerobios y anaerobios en la que se colocará directamente el líquido y será procesado como tal, es muy útil en caso de líquidos transparentes o ligeramente opalinos que pueden contener muy pocos microorganismos.*

BIBLIOGRAFÍA

1. Amiel D. Tendons and Ligaments: A morphological and biochemical comparison. *J Orthop Res* 1984;1: 257-265.
2. Ropes M W, Bauer W. Synovial fluid changes in Joint diseases. Cambridge, Harvard University Press, 1953
3. Unsworth A, Dowson D, Wright V: "cracking joints" A bioengineering study of cavitations in the metacarpophalangeal joint. *Ann Rheum Dis* 1971;30:348-351.
4. Kelley W N., *Textbook of Rheumatology*. 5th edition. Ed Saunders 2001
5. Dubost J, Fis I, Denis P. Polyarticular septic arthritis. *Medicine (Baltimore)* 1993;72:296-310
6. Eisenberg JM, Schumacher HR, Davidson PK, Kauffman L. Usefulness of synovial fluid analysis in the evaluation of joint effusions. *Arch Intern Med* 1996; 144:715.
7. Montgomery S.C., Campbell J. Septic arthritis following arthroscopy and intra-articular steroids. *J Bone Joint Surg* 1989;71:540
8. Blackburn WD, Alarcon GS. Prosthetic Joint infections: a role for prophylaxis. *Arthritis Rheum* 1991;34:110
9. Kaandorp CJE, vanShaardenburg D, Krijnen P, et al. Risk factors for septic arthritis in patients with joint disease. A prospective study. *Arthritis Rheum*. 1995;38:1819
10. Norden C.W. Bone and Joint Infection. *Curr Opin Infect Dis*. 1996; 9:109-114
11. Gatter RA, Schumacher HR. *Practical handbook of joint fluid analysis*, 2nd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1991
12. Cohen AS, Goldenberg D. *Synovial Fluid Laboratory Diagnosis Procedures in Rheumatic Diseases*. Edited by A.S. Cohen. Boston, Grune & Stratton, 1985.
13. McCutchan HJ, Fischer RC. Synovial leukocytosis in infectious arthritis. *Clin Orthop*. 1990;257:226-230
14. Shemerling RH, Delbanco TL, Tosetson ANA, et al. Synovial fluid test. *JAMA*. 1990;264:1009-1014
15. Schumacher HR, Reginato AJ: *Atlas of Synovial Fluid Analysis and Crystal Identification*. Lea & Febiger, Philadelphia USA, 1991.
16. Schweitzer ME, Deely DM, Beavis K, Gannon F: Does the use of lidocaine affect the culture of percutaneous bone biopsy specimens obtained to diagnostic osteomyelitis? An in vitro and in vivo study. *Am J Roentgenol* 1995. 164; 1201-1203
17. Kortekangas P, Aro HT, Lehtonen OP. Synovial fluid culture and blood culture in acute arthritis: a multi-case report of 90 patients. *Scand J Rheumatol* 1995; 24:44-47
18. Smith JW, Piercy EA: Infectious arthritis. *Clin Infect Dis*. 1995; 20:225-231

BURSAS

Las bursas son pequeños acúmulos de grasa localizados sobre las superficies óseas prominentes. La inflamación, independientemente de su etiología, se denomina bursitis.

BURSITIS SÉPTICA

En general en presencia de una bursitis séptica encontramos aumento de volumen, aumento de la temperatura local, dolor a la palpación y movimientos articulares normales.

En la bursitis, el movimiento articular es normal.

La bursa puede infectarse por vía hematógena, traumatismos y por contigüidad desde una artritis séptica¹. Al igual que en las artritis sépticas, el *Staphylococcus aureus* es la bacteria más frecuentemente cultivada en el líquido bursal de la bursitis séptica aguda, seguida del *Streptococcus beta* hemolítico y, más raramente, pueden encontrarse *Staphylococcus coagulasa* negativa y una variedad de bacterias gram negativas, micobacterias atípicas y hongos. También se han descrito bursitis olecraneana causada por el alga *Prototheca spp*^{2,3} (ver figura XII-1) y por *Nocardia asteroides*⁴ (ver figura XII-2). Tampoco es infrecuente encontrar infección por más de una bacteria simultáneamente⁵.

TOMA DE LA MUESTRA

El líquido bursal también se obtiene por

punción directa de la bursa y se puede examinar con los mismos métodos utilizados en el estudio del líquido sinovial. El líquido bursal, a diferencia del líquido sinovial, posee una viscosidad menor y, en presencia de inflamación o de infección, la respuesta celular no es habitualmente tan intensa como la que se observa en el líquido sinovial; asimismo, el aspecto macroscópico no refleja habitualmente el grado de inflamación. Sin embargo se encuentra gran predominio de polimorfonucleares. En las bursitis sépticas el líquido puede ser purulento, turbio o claro⁶.

Los pacientes en hemodiálisis pueden presentar bursitis traumática, séptica o inducida por depósitos de cristales de apatita, oxalato o urato monosódico⁷.

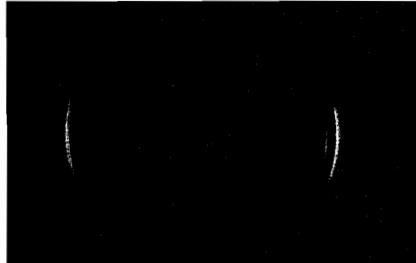


Figura XII-1
Aislamiento del alga *Prototheca spp* en un paciente con síndrome de Ehlers-Danlos más bursitis.



Figura XII-2
Aislamiento de *Nocardia asteroides* de una paciente con bursitis olecraneana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cyriax J: Diagnosis of soft tissue lesions, Textbook of Orthopaedic Medicine, Vol1. London, Bailliere Tindall. 1982:173
2. Demontclos MG, Chatte M, Perrinfayolle M, Flandrois JP. Olecranon bursitis due to *Prototheca wickerhamii*, an algal opportunistic pathogen. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1995;14:561-562
3. Freire P, Izurieta J, Collantes J. et al. Síndrome de Ehlers Danlos mas bursitis por *Prototheca*. Resumen del Congreso de Dermatología, Medellín, Colombia. 1996
4. Ventura R, Ayala V. Bursitis por *Nocardia*. Metro Ciencia 2003;12:35-36
5. Canoso J: Bursal membrane and fluid in Laboratory Diagnostic Procedures in Rheumatic Diseases. Edited by AS Cohen, Grune & Stratton, NY, 1985. pp 55-76
6. Ho G Jr, Tice AD, Kaplan SR: Septic bursitis in the prepatellar and olecranon bursae. An analysis of 25 cases. Ann Intern Med, 1978;89:21
7. Schumacher HR, Reginato AJ: Atlas of Synovial Fluid Analysis and Crystal Identification. Lea & Febiger, Philadelphia USA, 1991.

PIOMIOSITIS

La piomiositis es la infección bacteriana del músculo esquelético. Fue descrita por primera vez en 1885 como una enfermedad endémica en los trópicos¹. En la última década ha habido un incremento en el reporte de casos en todo el mundo, asociado sobre todo al virus de HIV².

Clínicamente el paciente se presenta inicialmente con fiebre de intensidad variable y dolor local, con o sin eritema; 8 a 10 días después el músculo está muy tenso e inflamado y el área de la piel se muestra con eritema y calor; finalmente, si no se ha realizado el diagnóstico, aparecen manifestaciones sistémicas y sepsis. Localmente se encuentra mucho dolor y características de haber formado un absceso^{3,4}. Presentaciones atípicas con síntomas inespecíficos pueden ocurrir en pacientes con HIV⁵. Los grupos musculares que más frecuentemente se afectan son: los gemelos, soleo, glúteos, para-espinales, psoas, deltoides y bíceps, sin embargo existen reportes de piomiositis

en otros grupos musculares².

El agente etiológico responsable en más del 95% de casos es el *Staphylococcus aureus*, el *Streptococcus* del grupo A puede estar presentes en el 1 a 5% de casos de piomiositis. También se han reportado infecciones por bacilos Gram negativos, hongos, micobacterias como agentes etiológicos de piomiositis⁶.

Las bacterias acceden al músculo por trauma local cerrado, heridas penetrantes, mordeduras de animales, insuficiencia vascular prolongada o por contigüidad; es muy rara la siembra por vía hematógena y ocurre en menos del 1% de casos⁷.

TOMA DE MUESTRA

Para el diagnóstico se realiza punción y aspirado con aguja en el área muscular involucrada. Para el drenaje quirúrgico, la guía por tomografía puede ser de ayuda⁸, al igual que el ultrasonido que

revela un incremento de la masa muscular y áreas hipoecoicas con ecos internos que sugieren con alta probabilidad colecciones intramusculares⁹. Todo el material obtenido debe ser llevado inmediatamente al laboratorio para coloración de Gram y cultivo aerobio y anaerobio; al

igual que el líquido sinovial, debe procesarse lo más rápidamente posible e informarse inmediatamente al médico tratante el resultado del Gram. En el laboratorio encontramos leucocitosis, velocidad de sedimentación alta y puede haber eosinofilia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Scriba J: Beitrag zur aetiologie der myositis acuta. Disch Z Chir. 1885;22:497-502
2. Patel S, Oleginki T, Perruquet JL, Harrington T. Pyomiositis: Clinical Features and predisposing conditions. J Rheumatol 1997;24:1734-8
3. Gibson RK, Rosenthal SJ, Lukert BP. Pyomiositis - increasing recognition temperatura climates. Am J Med 1984;77:768-72
4. Anand SV, Evans KT. Pyomiositis. Br J Surg 1964;51:917-20
5. Ansaloni L, Acaye GL: Absence of neutropenia in African patients with AIDS and associated pyomyositis. East Afr Med J. 1994;71:736-8
6. Gomez-Reino JJ, Aznar JJ, Pablos JL, et al. Nontropical pyomyositis in adults. Semin Arthritis Rheum. 1994;23:396-405
7. Smith JM, Vickers AB. Natural history of 338 treated and untreated patients with staphylococcal septicaemia. Lancet 1960;1:1318
8. McLoughlin MJ. CT and percutaneous fine-needle aspiration biopsy in tropical myositis. AJR 1980;134:167-8
9. Quillin SP, McAlister WH. Rapidly progressive pyomyositis: Diagnosis by repeat sonography. J Ultrasound Med. 1991;25:146



FASCITIS NECROTIZANTE

La fascia es una delgada lámina de tejido fibroso, que cubre al músculo y lo separa del músculo adyacente y del hueso (fascia profunda) y del tejido celular subcutáneo (fascia superficial).

La fascitis necrotizante se desarrolla a nivel de la fascia superficial y afecta en la mayoría de casos a la dermis, por lo cual puede confundirse inicialmente con celulitis¹.

Los gérmenes involucrados son: en el 80 % flora mixta aerobios y anaerobios, seguidos por un 20% de anaerobios en los que se incluyen: *Peptostreptococcus spp*, *Prevotella spp*, *Fusobacterium spp*, *Bacteroides spp* y *Clostridium spp* y en el 10% aerobios: *Streptococcus* del grupo A, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y otras *Enterobacteriaceas*^{2,3}.

Los síntomas clínicos iniciales son inespecíficos con dolor o fiebre sin explicación, más adelante aparece tumefacción seguido de edema e hiperestesia que se continúa con formación en la epidermis de ampollas de contenido azul o morado. En fases iniciales puede confundirse con trombosis venosa profunda y además el cuadro clínico puede enmascarse por el uso de antiinflamatorios no esteroideos⁴. La gangrena puede progresar rápidamente en un período de 2 a 4 días y el paciente se presenta con deterioro importante y sepsis. Los crépitos en el tejido pueden sentirse a la palpación en el 30% de casos y asociado con infección por *Clostridium*⁵.

Los factores de riesgo que se han identificado incluyen edad, enfermedad vascular periférica, diabetes, nefropatías, hepatopatías y alcoholismo.

Para el diagnóstico y tratamiento es fundamental la intervención quirúrgica, con el objetivo de explorar profundamente, eliminar el tejido necrótico, reducir la presión compartamental y obtener material adecuado para la tinción de Gram y para cultivos en medios anaerobios y aerobios⁶.

La inspección directa de la fascia es el método más rápido y efectivo para hacer un diagnóstico de fascitis necrotizante

No se aconseja la aspiración con aguja fina o el estudio del pus en una área que se sospecha como fascitis, debido a su baja sensibilidad⁷.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brok I, Frazier EH. Clinical and microbiological features of necrotizing fasciitis. *J Clin Microbiol* 1995;33:2382-87
2. Berkelman RL, Martin D, Graham DR, et al. Streptococcal wound infections caused by a vagina carrier. *JAMA*. 1982;247:2680-82
3. Hsueh PR, Wu JJ, Hsue TR, et al. Bacteremic necrotizing fasciitis to *Flavobacterium odoratum*. *Clin Infect Dis* 1995;21:337-38
4. Bisno AL, Stevens DL. Streptococcal infections of skin and soft tissue. *N Engl Med*. 1996;334:240-245
5. Pessa ME, Howard RJ. Necrotizing fasciitis. *Surg Gynecol Obstet* 1985;161: 357-361.
6. Stamenkovic I, Lew PD. Early recognition of potentially fatal necrotizing fasciitis. *N Engl J Med* 1984;310:1689-93.
7. Lee PC, Turnidge J, McDonald PJ. Fine needle aspiration biopsy in diagnosis of soft tissue infections. *J Clin Microbiol* 1985;22:80-83.

OSTEOMIELITIS

La osteomielitis es la infección piógena del hueso. Históricamente se ha clasificado en: aguda, subaguda y crónica, sustentado en el tiempo de inicio de la enfermedad.

La osteomielitis aguda se desarrolla en menos de dos semanas después de la colonización bacteriana; la forma subaguda y crónica aparecen en uno a varios meses después¹.

Las bacterias acceden al hueso por vía hematógena que es la forma de infección más frecuente en los niños; por contigüidad desde focos infectados en piel o tejido celular subcutáneo y secundario a traumas con exposición del hueso².

Las bacterias constituyen la primera causa de osteomielitis, ocasionalmente pueden estar implicados los hongos pe-

ro casi nunca los virus o los parásitos. El agente etiológico es el *Staphylococcus aureus*, principal causa de osteomielitis en adultos y niños en la mayoría de los casos, pero pueden estar involucrados en menor proporción *Salmonella* (drepanocitosis), *Haemophilus* (niños), Enterobacterias (en pacientes hospitalizados, cirugía previa y cateterizados), *Pseudomonas* (drogadictos), *Fusobacterium necrophorum*, *Mycobacterium tuberculosis* y levaduras³.

Si hay antecedente de mordeduras humanas hay que sospechar en *Eikenella corrodens* y si la mordedura es de animales buscar *Pasteurella multocida*. Los anaerobios rara vez están implicados en osteomielitis, pero debemos sospechar en ellos cuando el proceso infeccioso está localizado en maxilar (*Actinomyces*, *Capnocytophaga*, y otros que son parte de la flora normal de la cavidad oral como *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* y *Peptostrepto-*

coccus) o localizado en hueso púbico luego de una infección pélvica. En estos casos se debe trabajar desde el inicio en una cámara de anaerobios, si esto no es posible el microbiólogo debe procesar rápidamente la muestra dentro de una cabina de seguridad y colocar en los medios para anaerobios. Los pacientes diabéticos, que cursan con pie diabético suelen desarrollar osteomielitis con flora polimicrobiana que involucran bacterias aerobias y anaerobias, entre las más comunes están *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus*, bacilos Gram negativos, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, *agalactiae* y otros^{4,5}.

*En algunos países de América Latina existe una práctica común de asistir, luego de un trauma al "fregador", la vasodilatación producida por esta acción favorece la invasión del **Staphylococcus aureus**.*

TOMA DE MUESTRA

La muestra de hueso puede ser obtenida por 1) cirugía abierta o 2) biopsia transcutánea. Para el diagnóstico de osteomielitis no se deben enviar hisopados de las fistulas, pues las bacterias aisladas solo son colonizadoras superficiales del trayecto fistuloso y no representan al verdadero agente etiológico. Sin embargo sí es útil enviar el pus que se obtiene a través del aspirado⁶.

Una vez en el laboratorio la muestra de hueso debe ser triturada, muchas veces suele ser difícil por su dureza pero otras ocasiones el hueso está friable, suave y necrótico. Una vez que se ha logrado la trituración se procede a sembrar en los diferentes medios. Si no ha sido posible realizar la trituración con un bisturí se procede a "astillar" el hueso y estas "astillas" se siembran directamente. En casos excepcionales en los que no podamos triturar el hueso podemos colocarlo directamente en un caldo de tioglicolato para luego de 24-48 horas de incubación proceder a dar los pases a los medios correspondientes.

Se ha demostrado que la toma de muestras con hisopos de las fistulas o senos de drenaje, no debe realizarse debido a que la flora que cultivamos de este tipo de muestras pueden no reflejar el agente etiológico real de la osteomielitis.

Cuando se sospecha una infección del hueso, la muestra es tomada a través de cirugía o por biopsia percutánea y colocada en recipiente estéril boca ancha, tapa rosca.

Cuando se sospecha de osteomielitis aguda se debe realizar conjuntamente dos o tres hemocultivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carek PJ, Dickerson LM, Pharm D, Sack J. Diagnosis and Management of Osteomyelitis. *Am Fam Physician* 2001;63:2413-20
2. Waldvogel FA, Medoff G, Swartz MN. Osteomyelitis: a review of clinical features, therapeutic considerations and unusual aspects (first of three parts). *N Engl J Med* 1970;282:198-206
3. Lew D, Waldvogel FA. Osteomyelitis *1997*;336:999-1007
4. Caputto GM, Cavanagh PR, Ulbrecht JS, Gibbons GW, Karchmer AW. Assessment and management of foot disease in patients with diabetes. *N Engl J Med* 1994;331:854-69
5. Eckman MH, Greenfield S, Mackey WC, et al. Foot infections in diabetic patients: decision and cost-effectiveness analyses. *JAMA* 1995;273:712-20
6. Peltola H, Vahvanen V. A comparative study of osteomyelitis and purulent arthritis with special reference to aetiology and recovery. *Infection* 1984;12:75-9





**XIII. INFECCIONES CAUSADAS POR CATÉTERES
INTRAVASCULARES**

PREVIOUS PAGE BLANK

BEST AVAILABLE COPY

Se definen como catéteres intravasculares a los dispositivos plásticos (teflón, silicona, recubiertos o impregnados) que permiten acceder al compartimento intravascular a nivel central. Varían en su diseño y estructura según se utilicen en forma temporal (días) o permanente (semanas, meses), el número de lúmenes y el motivo por el cual se colocan en el paciente. El uso de estos dispositivos es de gran utilidad clínica pues permite un acceso rápido y seguro al torrente sanguíneo de fluidos endovenosos, medicamentos, productos sanguíneos, nutrición parenteral total, monitoreo del estado hemodinámico y para hemodiálisis. Los catéteres insertados percutáneamente, tanto por un acceso periférico (vena basilica o cefálica), como por uno central (vena subclavia, yugular interna, axilar o femoral) se consideran de corta duración pues se fijan en menos de 30 días. Los catéteres tipo Hickman, Broviac, las cánulas cortas intravenosas, los catéteres arteriales, los catéteres de Swan-Ganz o los electrocatéteres son considerados de larga duración, así como los que se utilizan en los pacientes policateterizados o portadores de catéter central para tratamientos prolongados o hemodiálisis. En catéteres de corta duración la colonización por microorganismos de la piel es fundamentalmente por la superficie externa del sitio de inserción², en cambio, en los de larga duración la colonización es principalmente

de la superficie interna¹.

Cada vez es más frecuente la colocación de estos dispositivos a los pacientes ya sea con fines terapéuticos y/o diagnósticos; su uso sin embargo, no está exento de riesgos, habiéndose descrito complicaciones mecánicas e infecciosas. Se estima que la bacteriemia asociada a un catéter (BAC) se produce entre el 1 y el 8% de los dispositivos intravenosos centrales utilizados y el 33% de las bacteriemias nosocomiales tienen este origen. Las BAC prolongan la estancia e incrementa los costos en la UCI, con una mortalidad entre el 5% al 35%. Las complicaciones graves son la trombosis séptica, la endocarditis y las metástasis sépticas a distancia^{3,4}.

La piel y la conexión son las principales fuentes de la colonización del catéter. Los microorganismos colonizarían la conexión a través de las manos contaminadas del personal que manipula la conexión. La adherencia y colonización de los microorganismos al catéter con formación de una matriz biológica representa uno de los eventos iniciales que conducen posteriormente a la septicemia relacionada al catéter. En 1995, Raad y colaboradores⁵, demostraron mediante estudios de microscopía



Figura XIII-1
Catéter de larga duración para hemodiálisis.

pia electrónica, que ambas vías de colonización ocurren y dependen del tiempo de permanencia del catéter venoso central.

Es importante diferenciar una colonización de una infección. Estamos frente a una **colonización** del catéter cuando hay un aislamiento significativo en el extremo distal o punta de catéter (cultivo cuantitativo o semicuantitativo) o en la conexión, sin que existan signos clínicos de infección en el punto de entrada del acceso vascular ni signos clínicos de sepsis. La colonización no implica bacteriemia ni requiere tratamiento antimicrobiano.

Estamos frente a una **infección** del catéter cuando existe⁶:

1. **Flebitis (vena periférica):** Induración o eritema con calor y dolor en el punto de entrada y/o en el trayecto del catéter.
2. **Infección del punto de entrada:** Signos locales de infección en el punto de entrada del catéter: enrojecimiento, induración, calor y salida de material purulento, es una infección *clínicamente documentada*. Si hay signos locales de infección en el punto de entrada del catéter más un cultivo positivo del mismo, pero sin bacteriemia concomitante (hemocultivo negativo) es una infección *microbiológicamente documentada*.
3. **Infección del túnel:** Eritema, aumento de la sensibilidad y/o induración a más de 2 cm del sitio de salida, a lo largo del trayecto subcutáneo (por dentro del *cuff*) de un caté-

ter tunelizado (Hickman, Broviac o de hemodiálisis), con o sin infección concomitante del torrente sanguíneo.

4. **Infección del bolsillo:** Infección con salida de fluido en el bolsillo subcutáneo de un catéter totalmente implantable. A veces asociado con aumento de la sensibilidad, eritema y/o induración sobre el bolsillo. Puede haber rotura espontánea y drenaje o necrosis de la piel que cubre el reservorio, con o sin infección del torrente sanguíneo concomitante.
5. **Infección del torrente sanguíneo. Relacionada a la infusión:** Crecimiento del mismo microorganismo en la infusión y en el hemocultivo periférico, sin evidencia de otra fuente de infección.
6. **Infección relacionada al catéter:** Bacteriemia o fungemia en un paciente con un dispositivo vascular con uno o más hemocultivos periféricos positivos, con manifestaciones clínicas de infección (fiebre, escalofríos y/o hipotensión) y sin otra fuente aparente de infección del torrente sanguíneo.

Deben enviarse a Microbiología para cultivo sólo los catéteres procedentes de los pacientes con signos y síntomas de infección: enrojecimiento, induración, calor y salida de material purulento. Los cultivos sistemáticos de vigilancia no están indicados.

Tabla XIII-1

Tipos de catéteres usados con mayor frecuencia y sus características.

TIPO DE CATÉTER	CARACTERÍSTICAS	USOS
Catéter venoso central común (CVC)	Es el dispositivo intravascular de mayor uso. Se inserta en forma percutánea, a través de un acceso venoso central (vena subclavia, yugular o femoral)	Frecuentemente utilizados en unidades de cuidados intensivos. Objetivos: infusión de fármacos, monitoreo hemodinámico, plasmaféresis, nutrición parenteral total, etc. Concebido para emplearse por corto tiempo y no ser implantado quirúrgicamente.
Catéter central periféricamente instalado (CCPI) PICC= del inglés <i>Peripherally instaled central catheter</i>	Es un dispositivo de silicona biocompatible y radiopaco, cuya inserción es periférica, pero la ubicación de su extremo distal (punta) es central (vena cava superior o subclavia). Posee un conductor de teflón divisible o <i>scalp vein</i> .	Se ha utilizado ampliamente en neonatología, ya que permite un acceso central rápido y seguro por vía periférica, Objetivos: administración de todo tipo de soluciones. Existen de corta y larga duración. Mayor comodidad y confort al paciente y registra una baja incidencia de complicaciones.
Catéter de hemodiálisis	Utilizado para hemodiálisis. En caso de infección hay que considerar que el sitio de inserción y la infección del túnel tienen las mismas definiciones que las de los otros catéteres. Algunos autores consideran entre éstas a las infecciones que comprometen el trayecto subcutáneo del catéter por fuera del <i>cuff</i> .	Si bien puede presentarse en cualquier momento del periodo interdialisis, muchas veces ocurre durante la diálisis. Objetivos : hemodiálisis
Catéter tunelizado	Los de tipo Hickman-Broviac poseen un <i>cuff</i> o manguito y un trayecto subcutáneo que impide su desplazamiento, y su extremo proximal queda externalizado; en cambio, los de tipo Port poseen un reservorio ubicado en un bolsillo subcutáneo y quedan totalmente implantados.	Es el dispositivo más utilizado cuando se necesita un acceso prolongado a la circulación central, Objetivos: administración de quimioterapia o apoyo nutricional parenteral de larga duración. Ambos tipos poseen ventajas y desventajas, de modo que la elección de uno u otro debe decidirse en cada paciente atendiendo a factores tales como edad, condiciones sociales, frecuencia de controles, disponibilidad quirúrgica, etc. Los de tipo port tienen una menor tasa de infecciones, pero cuando se infecta el reservorio, las complicaciones son más graves. Presentan una mayor tasa de complicaciones de tipo mecánico.
Catéteres arteriales periféricos y monitoreo de presión:	Es un catión pequeño que se introduce a través de la arteria radial, pedia, o femoral. Tiene un circuito de agua que va con heparina y un conductor que va hacia el monitor.	Monitoriza la presión arterial continua y sirve también para toma de muestras.

PROCESAMIENTO PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

El catéter deberá retirarse cuando existan signos de sepsis grave y/o shock séptico, infección supurada del punto de entrada o del túnel subcutáneo, tromboflebitis séptica y/o complicaciones infecciosas a distancia. La presencia de una cardiopatía valvular y/o una prótesis endovascular también es indicativo de retirar el catéter. La retirada de un catéter infectado o supuestamente infectado es la principal maniobra diagnóstica y terapéutica en estas situaciones. No obstante, actualmente se cuenta con métodos alternativos que permiten diagnosticar y tratar la infección de un catéter central sin su retiro previo y, con ello, evitar retiros indeseadas.

El diagnóstico de las infecciones relacionadas al catéter depende del aislamiento del agente, para lo cual se han propuesto varios métodos de cultivo. Estos dependen de la necesidad de remoción del catéter o no. El primero tiene como principal desventaja que requiere el retiro del catéter y como se ha estimado que entre 75 y 85% de los catéteres se retiran innecesariamente durante la evaluación de un cuadro febril⁴, estos métodos representan un alto costo. Además el retiro de un catéter, particularmente en los pacientes con catéteres de larga duración, puede ser altamente inconveniente. Cada vez que se tome la decisión de retirar un catéter con la sospecha clínica de que existe una infección sistémica asociada a este dispositivo, es necesario obtener hemocultivos por venopunción y enviar un segmento del catéter .

Indicaciones de remoción del catéter:

- *Bacteriemia y/o sepsis persistente por más de 48 a 72 horas.*
- *Complicaciones locales evidentes.*
- *Aislamiento de microorganismos difíciles de erradicar (**Candida spp., Malazessia spp., S. aureus, Pseudomonas spp.**).*
- *Complicaciones metastásicas (endocarditis infecciosa, embolia pulmonar o periférica).*
- *Recurrencia de la infección después de discontinuar el tratamiento antimicrobiano.*
- *Criterio del médico clínico que enfrenta un paciente portador de catéter con signos y síntomas de sepsis severa sin un foco evidente.*

Métodos de cultivo que requieren el retiro del catéter

1. **Cultivo cualitativo de la punta.**

Consiste en la introducción del extremo distal del catéter en un caldo de cultivo. Su sensibilidad para detectar colonización del catéter es cercana a 100%. Sin embargo, basta la presencia de un microorganismo para que el cultivo sea positivo, por lo cual su especificidad para colonización es menor de 50%. Hasta 1977 era el procedimiento de rutina, pero la baja especificidad determinaba un alto número de falsos positivos, por lo que no se recomienda más.

2. **Cultivo semicuantitativo de la punta.**

En 1977, Denis Maki⁸ propuso el cultivo por rodamiento de la punta del catéter sobre una placa de agar, con recuento posterior de unidades for-

madoras de colonias, estableciendo un punto de corte de 15 unidades para el diagnóstico de colonización del catéter. Hasta la actualidad es considerada la técnica de referencia. Consiste en hacer rodar un segmento del catéter (5 cm del extremo distal) en una placa de agar sangre 4 veces hacia adelante y atrás y se incuba durante 24 horas a 37°C. Se acepta como criterio de colonización significativa la presencia de 15 o más ufc por placa. La sensibilidad del método encontrada por los autores en 5 episodios de bacteriemia relacionada a catéter fue de 100%, con una especificidad de 75%. Se demostró que con este punto de corte el valor predictivo de bacteriemia relacionada

a catéter era de 16%. Sólo recupera los microorganismos de la superficie externa del catéter, por lo que su máxima utilidad es en catéteres de corta duración con menos de 10 días de permanencia, ya que en esta etapa predomina la colonización a través de la piel del sitio de inserción y la migración posterior al extremo distal por la superficie externa del catéter. Moyer et al⁹ también describieron 100% de sensibilidad en el diagnóstico de bacteriemia relacionada a catéter. El cultivo semicuantitativo de la punta continúa siendo el método más utilizado. No requiere gran equipamiento y es de bajo costo.

Tabla XIII-2

Condiciones clínicas de la bacteriemia asociada al catéter (BAC):

SITUACIÓN	CONDICIÓN CLÍNICA
<i>Bacteriemia o funguemia relacionada con el catéter (diagnóstico tras la retirada del mismo).</i>	Aislamiento del mismo microorganismo (género, especie y antibiograma idéntico) en hemocultivo extraído de una vena periférica y en un cultivo cuantitativo o semicuantitativo de la punta del catéter en un paciente, con cuadro clínico de sepsis, y sin otro foco aparente de infección.
<i>Bacteriemia o funguemia relacionada con el catéter (diagnóstico sin retirada de la línea venosa).</i>	Cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, en el que se aísla el mismo microorganismo en hemocultivos simultáneos cuantitativos en una proporción superior o igual a 5:1 en las muestras extraídas a través de catéter respecto a las obtenidas por venopunción.
<i>Bacteriemia o funguemia probablemente relacionada con catéter, en ausencia de cultivo de catéter.</i>	Cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con hemocultivo positivo, en el que desaparece la sintomatología a las 48 horas de retirada la línea venosa.
<i>Bacteriemia o funguemia relacionada con los líquidos de infusión.</i>	Cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con aislamiento del mismo microorganismo en el líquido de infusión y en el hemocultivo extraído percutáneamente.



Figura XIII-2
Punta de catéter sobre agar sangre para ser rodado de acuerdo a la técnica de Maki.

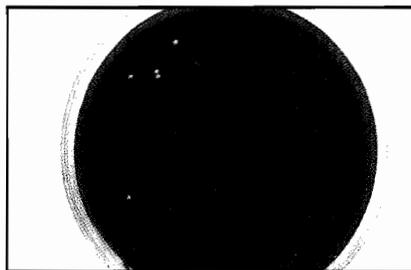


Figura XIII-3
Recuento de colonias luego de la siembra con técnica de Maki. Crecimiento de 5 ufc.

3. Cultivo cuantitativo del catéter. En 1980, Cleri et al¹⁰ idearon una técnica cuantitativa, cultivando la punta y el segmento subcutáneo por inmersión en caldo y lavado de la luz del catéter, de manera de aislar los gérmenes de la superficie interna y externa del catéter. Este método también conocido como método de *flush*, barrido o irrigación, consiste en un barrido del lumen con 2 ml de caldo del cual se hacen diluciones seriadas y siembra posterior en placa. El punto de corte es de 10^3 ufc, con el cual la sensibilidad fue de 100% y la especificidad de 92% en el diagnóstico de bacteriemia relacionada a catéter. Liñares y colaboradores¹ demostraron por este método, que 70% de las septicemias relacionadas a catéter presentaban colonización de la superficie interna en catéteres con permanencia promedio de 23 días. Rello y colaboradores¹¹ demostraron una sensibilidad de 53,8% en el diagnóstico de bacteriemia relacionada a catéter que tenían una permanencia promedio cercana a los 13 días. El método de Cleri es un procedimiento

simple, no requiere equipamiento, pero sólo recupera microorganismos intraluminales. Otros autores introdujeron modificaciones que simplificaron la técnica inicial, uno de ellos es el método cuantitativo descrito por Brun-Buisson y colaboradores¹², que recupera microorganismos de la luz y superficie externa del dispositivo. La técnica consiste en hacer pasar 1 ml de agua destilada estéril por el lumen del catéter y luego se somete a vórtex durante 1 minuto. Se siembra 0,1 ml de esta suspensión en una placa de agar sangre de cordero al 5% y se incuba durante 5 días. Se considera significativo un desarrollo mayor de 1.000 ufc/ml. Para el diagnóstico de bacteriemia asociada a catéter presenta una sensibilidad de 97,5% y una especificidad de 88%. Hay evidencia que el cultivo cuantitativo del catéter es superior a otras técnicas de diagnóstico, además que estos métodos cuantitativos tienen la ventaja de recuperar microorganismos de la superficie interna y externa del catéter que se liberan desde la capa de biofilm.

Se recomienda la elección de métodos que no requieren el retiro del catéter versus aquellos métodos de diagnóstico con remoción del CVC. Sin embargo, los métodos mejor validados en la literatura médica son los métodos que **requieren el retiro del catéter**³.

4. **Sonicación.** Es un método descrito por Sherertz y colaboradores¹⁴, en 1990. Se considera significativo un recuento $>10^3$ ufc/segmento del catéter, pues se asocia a bacteriemia relacionada a catéter. Con este punto de corte, los autores encontraron 93% de sensibilidad y 94% de especificidad en el diagnóstico de bacteriemia relacionada a catéter. Más tarde este punto de corte fue confirmado por los estudios de Kelly¹⁵ y colaboradores. Hay que depositar el segmento del catéter en un tubo con 10 ml de caldo tripticasa de soya y se somete a sonicación a 55.000 hertz durante un minuto. Se toman muestras del caldo (100 μ l) y se le agregan 0,9 y 9,9 ml respectivamente (para obtener diluciones de 1: 10 y 1: 100). Se siembran 100 μ l de cada dilución en una placa de agar sangre de cordero y se incuba hasta 48 horas. Esta técnica recupera microorganismos de la superficie interna y externa del dispositivo, y a diferencia del cultivo semicuantitativo del extremo distal, permite cuantificar recuentos altos de bacterias.

Los dos últimos métodos mencionados (método de irrigación o *flush* y sonicación) tienen mejor rendimiento en caté-

teres de larga duración, debido a que a partir del séptimo día empieza a predominar la colonización intraluminal del catéter. Entre las desventajas se citan: el laboratorio de microbiología debe contar con un equipamiento adecuado (vórtex, sonicador), con personal entrenado en estos métodos y la difícil estandarización del ultrasonido.

5. Técnicas de diagnóstico rápido.

Como todas las técnicas descritas requieren un tiempo de procesamiento y de incubación que retarda el resultado en por lo menos un día, se propusieron técnicas de tinción de la punta por Gram o por naranja de acridina. En ambos casos, se requieren catéteres de paredes transparentes y finas, por otra parte, el tiempo extra de trabajo de laboratorio lo hace poco práctico. La coloración de Gram del extremo distal descrito por Cooper y colaboradores¹⁶, consiste en la tinción de un segmento del catéter y observación con lente de inmersión. Se considera positivo si se observa 1 microorganismo cada 20 campos. Tiene una sensibilidad de 100%, especificidad de 96%, valor predictivo positivo de 83,9% y valor predictivo negativo de 100% para el diagnóstico de colonización del catéter. El valor predictivo positivo para bacteriemia relacionada a catéter fue de 34%. Es útil cuando la tinción de Gram no detecta microorganismos, ya que prácticamente descartaría colonización significativa del catéter.

La otra coloración del extremo distal, es con naranja de acridina, fue descrita por Zuffery colaboradores¹⁷. Por ser una tinción fluorescente reduce el tiem-

po de observación. Se considera positivo la visualización de uno o más microorganismos fluorescentes. Tiene una sensibilidad mayor que la coloración de Gram de 84% y una especificidad de 99%, con un valor predictivo positivo de 99,5% para el diagnóstico de colonización del catéter.

Las desventajas de estos dos métodos es que sólo se han estudiado para el diagnóstico de colonización y no permiten la identificación del microorganismo y su relación con los microorganismos aislados en los hemocultivos. Tampoco permiten la realización de estudios de susceptibilidad. Hay evidencia en la literatura para sensibilidad y especificidad de esta técnica respecto a colonización y no a bacteriemias relacionadas a catéteres, lo que puede conducir a sobrediagnóstico y sobretratamiento por colonización y no bacteriemia. Algunos autores no recomiendan su uso.

Métodos de cultivo que no requieren retiro del catéter

La alta frecuencia con que se retiran inútilmente los catéteres (75-85%) ha llevado a buscar métodos de diagnóstico que no requieran su retiro. Por otro lado, los catéteres tunelizados y especialmente aquellos con bolsillo subcutáneo requieren de procedimientos quirúrgicos para su retiro, y muchos pacientes inmunocomprometidos no están en condiciones de recibir otro dispositivo en plazo breve, además del costo que estos dispositivos y procedimientos implican. Las técnicas de cultivo descritas para catéteres que no requieren ser retirados son: hemocultivos cuantitativos, cultivos superficiales, citocentrifugación con tinción

de naranja de acridina y tiempo diferencial hasta la detección de crecimiento bacteriano entre hemocultivo periférico y central.

1. **Hemocultivo cuantitativo.** Se toma una muestra de sangre heparinizada por venopunción y simultáneamente una muestra de sangre heparinizada a través del catéter, (estos para recuento bacteriano) además de dos hemocultivos periféricos (no para recuento). Las muestras para estudio cuantitativo son sembradas en medios sólidos e incubadas paralelamente de modo de obtener un recuento de colonias expresado en ufc por ml de sangre. Una relación catéter/sangre periférica > 4:1 en el recuento de colonias es considerada indicativa de infección asociada al catéter. Esto significa que el laboratorio debe informar todos los recuentos >4:1, con lo que mejora la especificidad. También se debe considerar significativo un recuento central >100 ufc/ml. No hay acuerdo en el número de lúmenes a estudiar: algunos expertos recomiendan que las muestras sean obtenidas de cada lumen en aquellos catéteres multilumen, en cambio otros recomiendan la obtención de una sola muestra a través del lumen utilizado para la nutrición parenteral total.

Este método se ha recomendado tradicionalmente para infecciones asociadas a dispositivos implantables de larga duración o cuando las condiciones del paciente no permiten su extracción como es el caso de neonatos y pacientes con coagulopatías, o puede suceder que el acceso vascular sea nulo como en el caso de pacientes con zonas

extensas de quemadura y obesos mórbidos. Su desventaja es la complejidad técnica, necesita la existencia de bacteriemia y que la sangre refluya fácilmente del lumen del catéter.

Se han descrito 2 alternativas metodológicas para esta técnica:

A) Extraer 10 ml de sangre por el catéter central y 10 ml de sangre por venopunción en tubos de lisis-centrifugación (ISOLATOR, Wampole). Agite enérgicamente los tubos durante 20 segundos y centrifugue a 3.000 g en una centrífuga refrigerada. Siembre 0,1 ml del sedimento de cada tubo en una placa de agar sangre. Se considera positivo para bacteriemia asociada a catéter si el recuento del hemocultivo central es 10 veces mayor que el recuento del periférico, o si el recuento central presenta más de 100 ufc/ml en ausencia de foco primario.

B) Extraer 2 ml de sangre por punción periférica y 2 ml de sangre por el catéter en jeringa heparinizada, con tapa estéril. Agregue 1 ml de sangre sin diluir y 1 ml de sangre en diluciones de 1/10, 1/100 y 1/1.000 a 19 ml de agar cerebro corazón enfriado a 45° C y vierta a placas de Petri. Incube a 37° C y observe desarrollo bacteriano diariamente durante tres días. Compare el crecimiento de la o las placas centrales con la placa periférica y establezca la razón ufc central/ufc periférica.

El recambio de un catéter sobre guía (técnica de Seldinger) puede ser un procedimiento aceptable cuando existe sospecha de infección del catéter y se quiere mantener el mismo acceso vascular. No obstante, su indicación debe ser inversamente proporcional al grado de sospecha de infección y deberá efectuarse con una cobertura antibiótica adecuada. El recambio sobre guía está siempre contraindicado si existen signos locales de infección.

elevado valor predictivo negativo, pero no así positivo, por lo que se sugiere este procedimiento en el caso de catéteres de larga duración o pacientes con serias dificultades de accesos venosos¹³. Consiste en un cultivo de piel de un área de 10 cm² alrededor del sitio de inserción del catéter con un hisopo estéril humedecido, cuidando de no pasar dos veces por el mismo sitio, es un cultivo semicuantitativo²². Posteriormente, los microorganismos son eluidos del hisopo y sembrados en forma cuantitativa.

Cultivo semicuantitativo de la conexión. Su uso rutinario no está recomendado y por el momento hay pocas publicaciones que avalan su uso^{18,19}. Tendría especial utilidad en colonizaciones endoluminales y cuando los resultados son negativos, ya que presenta una buena especificidad. No está recomendado su uso rutinario. La ventaja de estos métodos es que no requieren el retiro del catéter; sin embargo, sólo cultivan la superficie interna del catéter.

2. **Cultivos simultáneos de piel y conector.** Algunos autores han estudiado el valor predictivo del hisopado de la piel a nivel del sitio de salida y del conector, habiendo encontrado un

3. **Citocentrifugación con tinción posterior con anaranjado de acridina.**

Es un método promisorio, descrito por Kite. Necesita más estudios para ser validado. Es laborioso y requiere equipamiento de alto costo (citocentrífuga Cytospin™, Shandon, Runcorn, UK) y microscopia de fluorescencia. Por ahora su uso no se recomienda. Consiste en obtener 50 µl de sangre por venopunción y por catéter y producir la lisis de los glóbulos rojos mediante la adición de ácido acético²⁰.

4. **Tiempo diferencial de los hemocultivos.**

Es un método relativamente nuevo de gran utilidad y bajo costo para catéteres de larga duración. Se requieren más estudios prospectivos que permitan validar esta técnica para su uso rutinario en catéteres de corta duración ya que, al igual que los hemocultivos cuantitativos, sólo recuperan los microorganismos presentes en el lumen del catéter. Fue descrito inicialmente por Blot y colaboradores²¹ y compara el tiempo diferencial de positividad de hemocultivos cualitativos de sangre obtenida a través del catéter y por venopunción, utilizando sistemas de hemocultivos automatizados. Se ha señalado como indicativo de bacteriemia relacionada a catéter un tiempo diferencial (valor de corte) de 120 minutos a favor del hemocultivo central con respecto del periférico. El fundamento de este método es que a mayor carga bacteriana, menor es el tiempo necesario para que un hemocultivo sea positivo en un sistema automatizado con mo-

nitorización continua. La validación de esta relación con estudios *in vitro* ha sido concluyente, según Rogers y colaboradores²². Este método tiene una sensibilidad de 94% y especificidad de 91% para el diagnóstico de bacteriemia relacionada a CVC en catéteres de larga duración en centros oncológicos^{23,24}. Un trabajo reciente, realizado en pacientes pediátricos oncológicos con catéteres de larga duración mostró una sensibilidad y especificidad de 87,5% y 100% respectivamente, empleando un punto de corte de dos horas diferenciales entre los hemocultivos centrales y los periféricos²⁵. Este método es factible de realizar sólo en centros que cuenten con sistemas de hemocultivos automatizados. Estudios respecto de su uso en catéteres de corta duración no han sido concluyentes²⁶.

Si se demuestra a posteriori que el catéter extraído estaba infectado, se aconseja retirar el nuevo catéter e insertar otro en un lugar diferente, siempre que el recambio no hubiera sido realizado con una cobertura antibiótica adecuada. No existen evidencias sobre el tiempo que debe transcurrir entre la retirada de un catéter y la inserción de uno nuevo en un lugar diferente. Tampoco hay evidencia suficiente sobre realizar una cobertura antibiótica profiláctica al colocar un nuevo catéter por sospecha de infección.

Recomendaciones para catéteres de hemodiálisis

No existen estudios que describan la sensibilidad y especificidad de los distintos métodos para el diagnóstico de las infecciones asociadas a catéteres de hemodiálisis. En muchos estudios se han usado diferentes definiciones, principalmente operacionales, basadas en la necesidad del retiro del catéter o la intensidad del tratamiento, más que a la patogenia de la infección o las pruebas de laboratorio. De esta forma, la infección del catéter de hemodiálisis ha sido vista hasta ahora a la luz de los conocimientos obtenidos de estudios en CVCs utilizados para otros fines y las estrategias diagnósticas se han extrapolado y adaptado sin haber sido validadas^{27,28,29}.

Las guías clínicas más aceptadas en la actualidad, *Dialysis Outcome Quality Initiative (DOQI)*, desarrolladas por la National Kidney Foundation, establecen categorías diagnósticas y el tratamiento para diferentes tipos de infecciones relacionadas al catéter de hemodiálisis, pero no establecen un método diagnóstico preferido basado en la evidencia³⁰.

No existe consenso en este tipo de catéteres sobre cuál es el lugar más adecuado para la toma de los hemocultivos. Los hemocultivos obtenidos mediante venopunción o periféricos han sido señalados como el *gold standard* para el diagnóstico de septicemia. En hemodiálisis el circuito extracorpóreo es una extensión del aparato circulatorio y, por lo tanto, los hemocultivos tomados desde el circuito han sido valorados como equivalentes a los tomados desde una vena periférica.

Los cultivos tomados directamente desde las ramas del catéter tienen una mayor posibilidad de ser falsamente positivos dado que el 68% de los catéteres se colonizan sin necesariamente producir bacteriemia³¹.

Los catéteres venosos centrales, independientemente de su tipo o localización, no deben ser cultivados rutinariamente. Es una práctica de alto costo, que sobrecarga de trabajo al laboratorio y la demostración microbiológica de colonización no se correlaciona con el cuadro clínico de bacteriemia relacionada a CVCs^{7, 32}.

En conclusión, las recomendaciones con respecto a los métodos diagnósticos de infección del catéter son las siguientes:

1. El cultivo del extremo distal debe acompañarse al menos de 1 hemocultivo obtenido por venopunción (la obtención de 2 hemocultivos periféricos a partir de diferente sitio de punción mejora la especificidad).
2. En el caso que el catéter deba ser retirado y se disponga de su extremo distal, se recomienda realizar alguna técnica cuantitativa de este extremo, especialmente la técnica de sonicación o la del método cuantitativo simplificado (*flush + vórtex*), ya que estos métodos permiten la recuperación de microorganismos intraluminales y de la superficie externa, por lo que pueden ser utilizados en catéteres de corta y larga duración.
3. Si el laboratorio no cuenta con los insumos necesarios (sonicador, vórtex, etc),

entonces el método semicuantitativo de Maki puede ser utilizado pero, dado que sólo recupera microorganismos de la superficie externa, debe ser utilizado en catéteres de corta duración.

4. En el caso de catéteres con más de una luz se recomienda la obtención, al menos, de las muestras por el lumen de la nutrición parenteral total o el lumen distal.
5. En el caso que el catéter no pueda ser retirado se deben elegir métodos conservadores. En primera instancia efectuar hemocultivos cuantitativos pareados con las técnicas descritas y valida-

das en la literatura. Si esto no es posible por la complejidad de estos métodos, entonces se recomienda el tiempo diferencial de la positividad de los hemocultivos, en aquellos laboratorios que dispongan de sistemas automatizados.

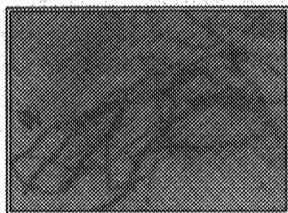
6. Estas recomendaciones son para CVC transitorios o permanentes. No hay datos en la literatura para suponer que los resultados de estos estudios sean extrapolables a otros tipos de catéteres (catéteres de hemodiálisis, por ejemplo).

BIBLIOGRAFÍA

1. Liñares J, Sitges-Serra A, Garau J, Pérez J L, Martín R. Pathogenesis of catheter sepsis: a prospective study with quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 357-60.
2. Dittmer I D, Shap D Mc Nulty C A, Williams A J, Banks R A. A prospective study of central venous hemodialysis catheter colonization and peripheral bacteremia. *Clin Nephrol* 1999; 51: 349.
3. Mermel L A, Farr B M, Sherertz R J et al. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1249-72.
4. Ryan J A, Abel R M, Abbott W M, Hopkins T M, Chesney T M. Catheter complications in total parenteral nutrition: a prospective study of 200 consecutive patients. *N Engl J Med* 1974; 290: 757-61.
5. Raad I, Costerton W, Sabharwal U, Sacilowski M, Anaissie E, Bodey G. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. *J Infect Dis* 1993; 168: 400-7.
6. Blot F, Schmidt E, Nitenberg G, Tancrede C, Lelercq, Laplanche A, et al. Earlier positivity of central -venous-versus peripheral-blood culture is highly predictive of catheter-related sepsis. *J. Clin. Microbiol.* 1998;36:105-109.
7. Siegman-Igra Y, Anglin A M, Shapiro D E, Adal K A, Strain B A, Farr B M. Diagnosis of vascular catheter-related bloodstream infection:a meta-analysis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 928-36.
8. Maki D G, Weise C E, Sarafin H W. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med* 1977; 296: 1305-9.
9. Moyer M A, Edwards L D, Farley L. Comparative culture methods on 101 intravenous catheters: Routine, semiquantitative, and blood cultures. *Arch Intern Med* 1983; 143: 66-9.
10. Cleri D J, Corrado M L, Seligman S J. Quantitative culture of intravenous catheter and other intravascular insert. *J Infect Dis* 1980; 141: 781-6.
11. Rello J, Coll P, Pitaris G. Laboratory diagnosis of catheter-related bacteremia. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 583-8.



12. Brun-Buisson C, Abrouk F, Legrand P, Huet Y, Larabi S, Rapin M. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis: critical level of quantitative tip cultures. *Arch Intern Med* 1987; 147: 873-7.
13. Widmer A F, Nettleman M, Flint K, Wenzel R. The clinical impact of culturing central venous catheters. A prospective study. *Arch Intern Med* 1992; 152: 1299-302.
14. Sherertz R J, Raad I I, Belani A et al. Three-year experience with sonicated vascular catheter cultures in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 76-82.
15. Kelly M, Wunderlich L R, McConico S, Peterson L R. Sonicated vascular catheter tip cultures. Quantitative association with catheter-related sepsis and the non-utility of an adjuvant cytocentrifuge Gram stain. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 210-5.
16. Cooper G L, Hopkins C C. Rapid diagnosis of intravascular catheter-associated infection by direct Gram staining of catheter segments. *N Engl J Med* 1985; 312: 1142-7.
17. Zuffery J, Rime B, Francioli P, Bille J. Simple method for rapid diagnosis of catheter-associated infection by direct acridine orange staining of catheter tips. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 175-7.
18. Cercenado E, Ena J, Rodríguez-Créixems M, Romero Y, Bouza E. A conservative procedure for the diagnosis of catheter-related infections. *Arch Intern Med* 1990; 150: 1417-20.
19. Kite P, Dobbins M H, Wilcox M H et al. Evaluation of a novel endoluminal flush method for in situ diagnosis of catheter related sepsis. *J Clin Pathol* 1997; 50: 278-82.
20. Kite P, Dobbins B M, Wilcox M H, McMahon M J. Rapid diagnosis of central-venous-catheter-related bloodstream infection without catheter removal. *Lancet* 1999; 354: 1504-7.
21. Blot F, Schmidt E, Nitenberg G et al. Earlier positivity of central-venous-versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 105-9.
22. Rogers M S, Oppenheim B A. The use of continuous monitoring blood culture systems in the diagnosis of catheter related sepsis. *J Clin Pathol* 1998; 51: 635-7.
23. Blot F, Nitenberg G, Chachaty E et al. Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood versus peripheral-blood cultures. *Lancet* 1999; 354: 1071-6.
24. Malgrange V B, Escande M C, Theobald S. Validity of earlier positivity of central venous blood cultures in comparison with peripheral blood cultures for diagnosing catheter-related bacteremia in cancer patients. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 274-8.
25. Gaur A H, Flynn P M. Differential time to positivity (DTP): A simple method for the diagnosis of catheter-related infection (CRI) in immunocompromised pediatric patients. Abstract # 624. 40th Annual Meeting IDSA. Chicago. October, 2002.
26. Rijners B J, Verwaest C, Peetersmans W E et al. Difference in time to positivity of hub-blood versus non hub-blood cultures is not useful for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection in critically ill patients. *Crit Care Med* 2001; 29: 1399-403.
27. Nassar G M, Ayus J C. Infectious complications of the hemodialysis access. *Kidney Int* 2001; 60: 1-13.
28. Kovalik E C, Schwab S J. Treatment approaches for infected hemodialysis vascular catheters. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002; 11: 593-6.
29. Saad T F. Central venous dialysis catheter: catheter associated infection. *Semin Dial* 2001; 14 (6): 446-51.
30. NKF-K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Vascular Access: Update 2000 *Am J Kidney Dis* 2001; 37: S137-S181.
31. Dittmer I D, Shap D, Mc Nulty C A, Williams A J, Banks R A. A prospective study of central venous hemodialysis catheter colonization and peripheral bacteremia. *Clin Nephrol* 1999; 51: 34-9.



XIV. INFECCIONES OCULARES



Las infecciones oculares comprenden la conjuntivitis, la queratitis, la endoftalmis y las infecciones perioculares.

CONJUNTIVITIS

La conjuntivitis es una infección de la conjuntiva del ojo por un sobrecrecimiento de bacterias sobre su superficie causando una inflamación aguda o crónica. Es una infección del ojo extremadamente común que afecta principalmente a niños, adolescentes y adultos jóvenes^{1,2}.

La mayoría de las conjuntivitis son benignas y autolimitadas, pero están asociadas, sobre todo las virales, a altas consecuencias socio-económicas causadas por ausentismo laboral y escolar. Los estudios bacteriológicos en la conjuntivitis son importantes pues en ciertos casos, la infección puede comprometer seriamente la visión. Estos casos son: en neonatos, lactantes, en pacientes inmunocomprometidos, en cirugía ocular reciente, uso de corticoides tópicos, uso de antimicrobianos en forma prolongada, usar lentes de contacto o prótesis, contacto sexual con individuos infectados con *N. gonorrhoeae* y conjuntivitis que no mejoran luego de una semana de tratamiento empírico^{3,4}. También es una indicación de cultivo el caso de conjuntivitis mucopurulenta recurrente y crónica, en la hiperaguda, en la membranosa y pseudomembranosa. La conjuntivitis puede ser bacteriana, fúngica, viral y parasitaria.

Los posibles agentes etiológicos se encuentran en la tabla XIV-1.

TOMA DE MUESTRA

Si se trata de una conjuntivitis no severa, la toma se realiza con un hisopo o escobillón de alginato de calcio (Calgiswab®), en el fondo de saco conjuntival. No tome la muestra de los dos ojos con el mismo hisopo. Si no se dispone de un medio de transporte comercial se puede enviar el hisopo dentro de un caldo de tripticasa soja; el hisopo debe ser de alginato de calcio y no de algodón pues éste puede contener ácido grasos que pueden inhibir el crecimiento bacteriano, el manguito debe ser de plástico, pues la madera puede contener sustancias bactericidas. Las muestras son tomadas de los dos ojos, colocadas en el medio de transporte y enviadas al laboratorio tan pronto como sea posible. Una alternativa es sembrar directamente la muestra sobre el agar chocolate y agar sangre. Si la muestra es escasa se preferirá realizar el cultivo, al frotis. En caso de tratarse de una conjuntivitis severa la muestra debe ser obtenida mediante un raspado de la conjuntiva tarsal superior e inferior después de la administración tópica de hidrocloreuro de proparacaína al 0.5%⁵.

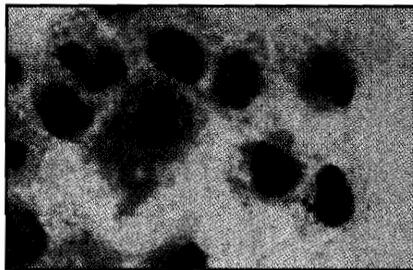


Figura XIV-1
Coloración Gram de secreción ocular de un neonato con conjuntivitis. Obsérvese los diplococos Gram negativos intracelulares y abundantes polimorfonucleares.

Tabla XIV-1

Agentes etiológicos de la conjuntivitis

BACTERIA	VIRUS	PARÁSITOS	HONGOS
Gram Positivas:	<i>Adenovirus</i>	<i>Onchocerca volvulus</i>	<i>Candida spp</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Poxvirus</i>	<i>Loo loo</i>	<i>Sporothrix schenckii</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Herpesvirus</i>	<i>Wuchereria bancrofti</i>	<i>Rhinosporidium seeberi</i>
<i>Streptococcus grupo viridans</i>	<i>Papillomavirus</i>	Miasis: <i>Oestrus ovis</i>	
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Influenzae A y B</i>	<i>Microsporidium: Nosema spp</i> <i>Encephalitozoon spp</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Paramyxovirus</i>	<i>Toxocara canis</i>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Picomavirus</i>		
<i>Peptostreptococcus</i>			

BACTERIA

Gram negativos:

<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Haemophilus aegyptius</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Bartonella henselae</i>	<i>Francisella tularensis</i>	Enterobacterias: <i>Proteus, Yersinia, Shigella</i>

Otras bacterias:

Chlamydia, Treponema
Mycobacterium tuberculosis

Si hay sospecha de conjuntivitis neonatal las muestras deben ser tomadas para cultivo y frotis de bacterias *N. gonorrhoeae*⁶, *Chlamydia* y otras y para Herpes simple. Veá figura XIV-1. El diagnóstico de oftalmía neonatal por *C. trachomatis* es relativamente sencillo. Realizar una tinción Giemsa para la búsqueda de cuerpos de inclusión en un extendido de la secreción conjuntival. Envíe una muestra para cultivo y para estudios del antígeno mediante Inmunofluorescencia directa, o EIA. Esto es posible debido a la gran cantidad de cuerpos elementales en la fase aguda, lo que hace que estas pruebas las detecten con facilidad^{7,8}. Es

to no sucede en la fase crónica y en el caso de conjuntivitis del adulto, situaciones en que el número de estos cuerpos de inclusión es menor⁹. El cultivo es más sensible con un alto grado de especificidad. Otra enfermedad ocular causada por *Chlamydia trachomatis* es el tracoma. Los serotipos implicados son A, B, Ba o C, mientras que en el paratracoma están incluidos los serotipos D, K y ocasionalmente el B¹⁰.

En caso de conjuntivitis virales, las más frecuentes al parecer son las causadas por adenovirus y enterovirus^{11,12}. Estas suelen presentarse en forma epidémica.

Para el diagnóstico se pueden realizar los cultivos celulares y las pruebas serológicas en fase aguda y de convalecencia, sin embargo esto generalmente no se realiza, debido a que estas infecciones son autolimitadas y no existe un tratamiento específico y por lo general el diagnóstico clínico no es difícil.

La muestra para cultivo celular debe ser tomada con hisopo de dacron, enviada en un medio de transporte específico para virus. Si no es posible hacer la siembra en la monocapa celular, mantener la muestra a 4°C hasta su siembra. El cultivo para Adenovirus se realiza en líneas celulares A/549 o las células MRC/5 que permiten el crecimiento de los virus y el efecto citopático puede observarse desde el primer día de incubación hasta la semana. Existen también pruebas de diagnóstico rápido como la inmunofluorescencia directa, técnicas de inmunoensayo y pruebas moleculares¹³.

La infección ocular por enterovirus se caracteriza por una conjuntivitis hemorrágica aguda, dolor periorbital con o sin sensación de cuerpo extraño, edema palpebral, profuso lagrimeo, erosiones superficiales difusas y está asociada a enterovirus 70 o virus Coxsackie A24. Las pruebas de laboratorio están indicadas para estudios epidemiológicos y las muestras conjuntivales pueden ser cultivadas en líneas celulares como la HeLa, HEK (de las siglas en inglés: Human embryonic kidney) y PMK (de las siglas en inglés: primary monkey kidney)¹⁴.

Realizar una tinción Giemsa puede ser útil, pues en casos de conjuntivitis bacteriana suele haber predominio de polimor-

fonucleares y puede encontrarse bacterias dentro de ellos y en el caso de una etiología viral el predominio es de mononucleares. Esta tinción también suele ser útil en infección por Herpes virus, pues en los frotis pueden observarse células gigantes multinucleadas. Vea figura XIV-2. En infección clamidial hay una mezcla de mononucleares y polimorfonucleares y ocasionalmente se pueden ver inclusiones citoplasmáticas en las células epiteliales. Observaremos eosinófilos en el caso de una conjuntivitis alérgica. La realización de una coloración de Gram tiene utilidad cuando se observan bacterias intraleucocitarias. Vea la figura XIV-3, pues como existe flora normal en la conjuntiva el observar bacterias no es indicativo de una infección por lo que los frotis pueden ser falsos positivos o falsos negativos cuando se los compara con el cultivo⁵.

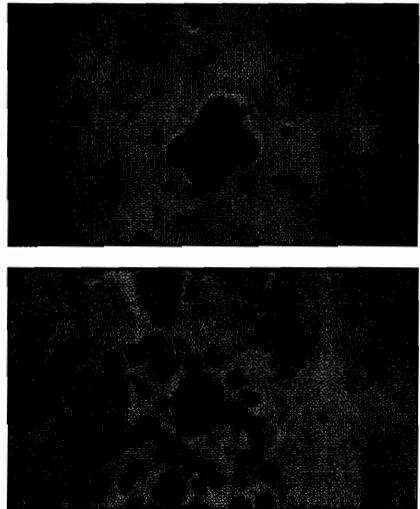


Figura XIV-2
Coloración Giemsa o Prueba de Tzanck. Obsérvese las células gigantes multinucleadas. Suelen aparecer en infecciones ocasionadas por el grupo de los Herpes virus.

QUERATITIS

Es la infección ocular grave más frecuente, ocasionado por toda la gama de microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos. El traumatismo es uno de los factores de riesgo más común^{15,16}, pues permite la invasión corneal de flora exógena^{17,18}. Existen situaciones que predisponen a la resequeidad del ojo, facilitando la ulceración, como es el caso de los pacientes con síndrome de Sjögren. Hay una diversidad de condiciones muy conocidas que pueden facilitar el traumatismo del ojo ocasionando una queratitis,

como es el uso de lentes de contacto^{19,20}, cosméticos^{21,22}, cirugía ocular²³, o situaciones especiales como en los pacientes comatosos, o severamente enfermos^{24,25}.

Los microorganismos implicados son muy diversos^{26,27} pueden ser bacterias, hongos como *Candida spp*, *Aspergillus spp* (vea figura XIV-4), *Fusarium spp*, virus como el Herpes simple, Herpes zoster y parásitos como *Acanthamoeba*^{28,29}. Los grupos de riesgo y los factores predisponentes se encuentran en la tabla XIV-2.

Tabla XIV-2

Microorganismos frecuentemente implicados en queratitis y característica de la úlcera

MICROORGANISMO	CARACTERÍSTICA DE LA ÚLCERA
<i>Staphylococcus aureus</i>	Úlcera redonda u oval con bordes definidas, también puede ser difusa, con microabscesos estromales anteriores relacionados con infiltradas profundas corneales.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Puede causar abscesos en córneas con patología subyacente. Esta bacteria es una oportunista y es poco probable que cause una infección en una córnea saludable.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Úlcera localizada o puede extenderse en forma rápida en alguna dirección, por lo general hacia el centro. Son muy necrotizantes, supurativas, generan hipopión que aumenta rápidamente.
<i>Streptococcus beta hemolítico del grupo B</i>	Úlceras corneales marginales y puede asociarse a dacriocistitis.
<i>Streptococcus grupo viridans</i>	Puede causar abscesos en córneas con patología crónica. Esta bacteria es poco virulenta y es poco probable que cause una infección en una córnea saludable.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Produce un absceso de rápida evolución que necrosa la córnea en capas. Puede rápidamente duplicar el tamaño en menos de 24 horas, generando una abundante secreción. Si se extiende puede invadir la esclera produciendo necrosis o ingresar al interior del ojo dando lugar a una endoftalmitis. El hipopión es muy frecuente lo mismo que el adelgazamiento corneal marcado como el descemetotecele. Puede producirse una queratitis en anillo causado por la migración de endotoxinas al estroma superficial.
<i>Moraxella spp</i>	<p>Dos tipos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) erosiones paracentrales, úlceras poco sintomáticas, poco necrotizantes, sin o poca manifestación en la cámara anterior 2) úlcera muy sintomática, necrotizante con hipopión que puede llegar a la perforación ocular
<i>Enterobacterias</i>	Úlceras anulares
<i>Neisseria meningitidis y gonorrhoeae</i>	Estas bacterias pueden invadir la córnea a pesar que el epitelio se encuentre intacto

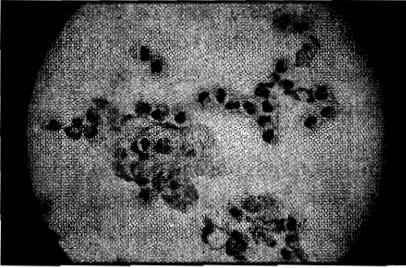


Figura XIV-3
Coloración Gram. Obsérvese las bacterias intraleucocitarias

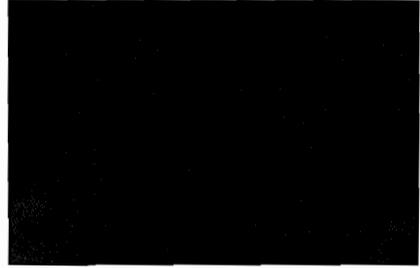


Figura XIV-4
Coloración de Gram en una muestra de úlcera corneal. Se observan hilas tabicadas de **Aspergillus spp.**

Tabla XIV-3

Causas de queratitis

SITUACIONES QUE PREDISPONEN A QUERATITIS	GRUPOS DE RIESGO
Alteraciones de la superficie ocular (resequedad ocular)	Pacientes con Síndrome de Sjögren Síndrome de Steven Johnson Tracoma, Radiaciones, Penfigoide ocular cicatrizal
Alteraciones del epitelio corneal	Pacientes con Distrofia corneal Infecciones por Herpes simple Degeneración corneal Glaucoma, Afaquia, Pseudofaquia
Cirugías oculares	Transplantados de cornea, o con cirugías refractivas (por defectos de refracción)
Cuerpos extraños metálicos	Soldadores, mecánicos, torneros, cortadores
Cuerpos extraños despedidos por vehículos en movimiento	Motociclistas, bicrass, peatones.
Partículas vegetales	Campeosinos, agricultores, biólogos de campo
Insectos	Traumatismo directo
Golpes con ramas, hojas,	Campeosinos, agricultores, biólogos de campo
Material de dientes o tártaro	Odontólogos sin gafas protectoras
Maquillajes contaminados (rimel y lápices delineadores)	Usuarios
Lentes de contacto (uso prolongado)	Usuarios
Ceniza volcánica (erupciones volcánicas)	Población expuesta a este fenómeno natural

TOMA DE LA MUESTRA

La muestra de la córnea es tomada por el oftalmólogo bajo una lámpara de hendidura. La toma de la muestra es mandatoria debido a que es imposible, sin una prueba de laboratorio, establecer si la queratitis es infecciosa o no. La muestra que se obtiene es por lo general escasa y muchas veces no se puede volver a tomar por lo que el procedimiento debe estar adecuadamente establecido en un protocolo que involucra al oftalmólogo y al microbiólogo. Debido a que la toma de la muestra requiere que el paciente esté quieto y se deje tomar la muestra, se necesita anestesia local o en caso de los niños anestesia general si hay poca colaboración. Vea figura XIV-5. Se procede a colocar el anestésico (hidrocloruro de proparacaína al 0,5%) en el ojo y con una espátula metálica de Kimura o un bisturí quirúrgico estéril (Bard-Parker) o con un hisopo o escobillón de alginato de calcio previamente sumergido en caldo tripticasa soja se procede a hacer un raspado de la zona afectada. Colocar directamente esta muestra en los medios de cultivo de rutina: agar sangre, agar chocolate, caldo de tioglicolato o caldo Schaedler para hongos en Sabouraud o infusión cerebro corazón y para anaerobios en agar sangre o agar Wilkins & Chalgren, si el mate-



rial es suficiente realizar los frotis correspondientes para Gram, Giemsa, Ziehl Neelsen, blanco de calcoflúor, y metenamina plata. Los frotis deben ser fijados inmediatamente con alcohol metílico. Si se sospecha de *Chlamydia*, *Acanthamoeba* o *Mycobacterium* el procesamiento es distinto. Para *Chlamydia* envíe en el medio de transporte SPS (capítulo III). *Mycobacterium* inocular en caldo Middlebrook 7H10 o 7H11 o en un caldo comercial para el equipo Bactec-MGIT. Y para *Acanthamoeba* envíe en solución salina para montaje directo para observar los trofozoitos móviles, realizar una coloración tricrómica y cultivo de este parásito. Éste último es el método de detección más sensible.

Al tomar la muestra de una úlcera corneal hay que tomar en cuenta lo siguiente:

1. El anestésico debe ser nuevo pues en muchas ocasiones los frascos de anestésicos están contaminados³⁰.
2. El microbiólogo debe estar presente para que la siembra se lleve a cabo junto al paciente, pues a veces la muestra es tan escasa que es preferible colocarla directamente sobre las cajas de cultivo.
3. El frotis suele ser útil pues permite realizar Gram, Giemsa o naranja de acridina o calcoflúor, para evidenciar rápidamente la presencia de bacterias, hongos o *Acanthamoeba spp.* Pero si la muestra es muy escasa es preferible el cultivo al frotis.

Figura XIV-5
Toma de muestra de una úlcera corneal con una aguja de Kimura, a través de la lámpara de hendidura.

4. Si la cantidad de la muestra lo permite y no hay otra alternativa se puede enviar la muestra en un medio de transporte (Stuart por ejemplo).
5. Es importante inocular en forma de C o S para observar el crecimiento en la zona de inoculación. Vea figura XIV-6. En la queratitis están implicados muchos microorganismos ambientales que pueden contaminar la caja de cultivo. Ante la sospecha de un hongo, por ejemplo, si éste crece en la zona de inoculación se considerará agente etiológico, si hay crecimiento fuera de la zona de inoculación lo más seguro es que se trate de una contaminación. También se debe considerar que el crecimiento debe presentarse en por lo menos dos de los medios sembrados.

También se puede realizar una biopsia corneal cuando se trata de una úlcera seca no supurativa. La biopsia puede ser completada con un bisturí quirúrgico o un trócar de 1,5 - 2 mm con cuchilla de diamante. La biopsia corneal al igual que el raspado, debe ser realizada bajo una lámpara de hendidura biomicroscópica³¹. Es importante señalar que una queratoplastia lamelar es totalmente innecesaria para propósitos de diagnóstico. En caso de una queratitis destructiva que no es posible determinar la causa por los métodos descritos puede requerir una queratoplastia invasiva.

Si se trata de una queratitis viral, puede

ser que no se requiera de un cultivo para establecer el diagnóstico debido a las características típicas de las lesiones. Si se decide realizar un cultivo se debe tomar la muestra de igual forma que la descrita y colocar la muestra en un medio de transporte viral, generalmente se envía para herpes simple tipo 1 y 2 y para adenovirus. Boerner y colaboradores³² en un estudio realizado a inicios de la década de los 80 demostraron la utilidad de la microscopia electrónica para el diagnóstico de queratitis, pero lamentablemente el número de laboratorios que tienen acceso a esta técnica es muy limitado.

INFECCIONES DE LAS CÁMARAS INTRAOCULARES

ENDOFTALMITIS

Es la infección más severa del ojo, pues puede ocasionar la ceguera o la pérdida del globo ocular, afecta las cavidades oculares y estructuras adyacentes, sin extensión del proceso inflamatorio a la esclera.

PANOFTALMITIS

Es una forma de endoftalmitis, que además afecta las tunicas oculares externas, en los casos muy graves están comprometidos los tejidos orbitarios.

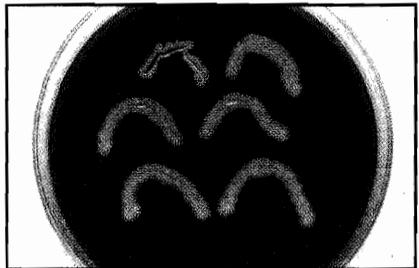


Figura XIV-6
Siembra directa de la muestra
de úlcera corneal en forma de
"C".

Tabla XIV-4

Clasificación de las endoftalmitis y sus causas

ENDOFTALMITIS EXÓGENA:	ENDOFTALMITIS ENDÓGENA:
Cirugía ocular	Embolia séptica
Traumatismos	Extensión desde tejidos adyacentes
Cirugía filtrante de glaucoma	
Queratitis no controlada	

La endoftalmitis post-quirúrgica se presenta principalmente luego de una cirugía de catarata, en menor proporción en cirugías menores como capsulotomía, extracción de suturas, correcciones de estrabismo con perforación accidental de la esclera^{33,34,35}. La etiología de este tipo de endoftalmitis son las bacterias Gram positivas que se encuentran en la conjuntiva y los bordes palpebrales. Las bacterias más comunes son: *Staphylococcus epidermidis*, que puede llegar a representar más del 50% de las infecciones, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y otros, *Propionibacterium acnes*. Dentro de los Gram negativos el más frecuente es *Pseudomonas aeruginosa* y *Aspergillus spp.*, dentro de los hongos.

La endoftalmitis post-traumática se presenta en forma compleja y de difícil diagnóstico debido a la presencia de inflamación producida por el mismo traumatismo³⁶, además el uso profiláctico de antimicrobianos que obstaculiza la recuperación del agente causal. Los agentes etiológicos en este tipo de endoftalmitis son: *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus spp.*, y otros bacilos Gram positivos.

En la endoftalmitis post-cirugía filtrante, el microorganismo alcanza la cavidad ocular a través de la ampolla de la cirugía de glaucoma³⁷. Los agentes etiológicos más frecuentemente involucrados es *Streptococcus spp.*, *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus spp.*. Al igual que las otras infecciones intraoculares, el pronóstico depende de:

- virulencia del microorganismo
- mecanismo de infección
- localización de la infección
- tratamiento oportuno y adecuado

Una complicación de la queratitis es la endoftalmitis. La amplia variedad de microorganismos implicados en la queratitis, serán los agentes etiológicos de este tipo de endoftalmitis. En la endoftalmitis endógena la vía de entrada es hematógena o por extensión de procesos infecciosos adyacentes, por lo tanto las causas son septicemia, inmunodepresión, drogadicción intravenosa, soluciones parenterales contaminadas^{38,39}. Dentro de los agentes etiológicos están implicados una gran variedad de microorganismos. Entre el grupo de hongos en primer lugar se encuentra *Candida albicans*.



TOMA DE LA MUESTRA

La toma de la muestra se realiza en el quirófano y en lo posible bajo microscopio. Puede ser realizada:

1. A través de la lesión o puerta de entrada como absceso, sutura abscedada, ampolla filtrante, etc.
2. Por punción de la cámara anterior (humor acuoso) o
3. Por punción del vítreo (humor vítreo)
4. Biopsia vítrea
5. Cultivo del lente intraocular

UVEÍTIS

La úvea está conformada por iris, cuerpo ciliar y coroides. Por lo tanto la uveítis es el resultado de un trauma de las estructuras internas del globo ocular debido a una enfermedad inflamatoria local o sistémica. La uveítis está asociada a enfermedades del tejido conectivo como artritis reumatoidea juvenil, síndrome de Reiter, lupus, etc. Se han clasificado a las uveítis en anteriores y posteriores. Las anteriores son consideradas no granulomatosas, no están implicados microorganismos, mientras que las uveítis posteriores son granulomatosas con etiología microbiana. Bacterias como *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, *Treponema pallidum*, *Nocardia asteroides*; virus como Herpes simple, Citomegalovirus, Varicella Zoster y hongos como *Histoplasma*, *Aspergillus spp* y *Candida spp.*, pueden ser causa de uveítis.

RETINITIS

Las infecciones de la retina son raras. Los microorganismos alcanzan la retina por vía hematogena o a través de la disemina-

ción de tejidos adyacentes. Los microorganismos son los mismos que causan uveítis pero también están implicados *Toxoplasma gondii*, *Cysticercus cellulosae*, *Toxocara canis*, *Pneumocystis carinii*. Dentro de los virus están Herpes simple 1 y 2, Varicella zoster y con el apareamiento del SIDA, el citomegalovirus ha cobrado importancia junto con el Toxoplasma⁴⁰.

TOMA DE MUESTRA

No siempre es posible tomar una muestra o llegar a un diagnóstico microbiológico. Para aislar el microorganismo causal se debe realizar una punción para la extracción del fluido intraocular. También se puede realizar una detección de anticuerpos en el suero del pacientes. Las técnicas moleculares, suelen ser muy útiles pero aún no están comercializadas y no están al alcance de todos los laboratorios⁴¹.

INFECCIONES DEL BORDE PALPEBRAL BLEFARITIS

La blefaritis es la inflamación de los tejidos que forman el párpado. Blefaritis ciliar se denomina cuando esta inflamación alcanza el borde de los párpados más todas sus estructuras adyacentes, como piel, pestañas, glándulas de Moll, glándulas de Zeis, tarso, glándulas de Meibomio y conjuntiva tarsal. Los microorganismos implicados son: *Staphylococcus aureus*, *Moraxella lacunata* y otras, *Pityrosporum ovale* y, en el folículo de las pestañas, el *Demodex folliculorum*. Entre los virus descritos como agentes causantes de blefaritis son Herpes simple I o II, Varicella-zoster, Poxvirus, Papovavirus, *Molluscum contagiosum*.

Cuando se inflaman las glándulas de Moll y Zeis estamos frente a un orzuelo externo, que es un absceso con formación de pus en el lumen de la glándula afectada. Mientras que si se afecta la glándula de Meibomio estamos frente a un orzuelo interno. Otro tipo de infección que la afecta es el chalazión que es una inflamación granulomatosa estéril de esta glándula⁴².

Los microorganismos implicados se encuentran en la tabla XIV-5.

INFECCIONES DEL APARATO LAGRIMAL DACRIOADENITIS DACRIOCISTITIS Y CANALICULITIS

El aparato lagrimal está conformado por: las glándulas lagrimales, glándulas accesorias, el punto lagrimal, canaliculo, el saco lagrimal y el conducto nasolagrimal.

TOMA DE MUESTRA

La muestra se toma protruyendo hacia el punto lagrimal a través del cual se puede extraer material purulento o caseoso o concreciones. Se toma con un hisopo o escobillón y se coloca en un medio de transporte. Con otro hisopo se procede a la realización de frotis en un portaobjetos, para tinción de Gram, o Ziehl Neelsen, Giemsa, etc. La muestra deben ser sembrada para aerobios, anaerobios y hongos. En caso de las concreciones, se coloca completa en el medio de transporte y se siembra para anaerobios, pues el microorganismo más frecuente es *Actinomyces israelii*⁴⁵.

Tabla XIV-5

Infecciones del aparato lagrimal y los microorganismos implicados

ENTIDAD CLÍNICA	CARACTERÍSTICAS	MICROORGANISMOS IMPLICADOS
Dacrioadenitis	Inflamación de la propia glándula lagrimal. Los microorganismos suelen llegar a través de la vía hematogena	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp Crónica: <i>Mycobacterium</i> spp Raras: <i>Schistosoma haematobium</i> , <i>Onchocerca volvulus</i> , <i>Cysticercus cellulosae</i> Virales: <i>Herpes</i> , <i>Citomegalovirus</i> , <i>Coxsackie A</i> , <i>Echovirus</i> , <i>Epstein Bar</i> ⁴⁶ y el virus de las paperas.
Dacriocistitis	Es la inflamación del saco lagrimal y es la infección más frecuente. Está asociada generalmente con la obstrucción del saco nasolagrimal.	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pasteurella multocida</i> ⁴⁴ <i>Actinomyces</i> spp <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Aspergillus</i> spp y <i>Candida</i> spp
Canaliculitis	Es una inflamación del canaliculo bajo más que el alto. Afecta únicamente al adulto.	Flora mixta aerobia y anaerob ia. <i>Actinomyces israelii</i> <i>Propionibacterium</i> spp <i>Nocardia</i> , <i>Fusobacterium</i> . <i>Campylobacter</i> . <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus</i> spp

BIBLIOGRAFÍA

1. Wald ER. Conjunctivitis in infants and children. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:S7—S20.
2. Syed MA, Hyndiuk RA. Infectious conjunctivitis. *Infect Dis Clin North Am.* 1992;6:789-805.
3. Gigliotti F, Williams WT, Hayden FG, et al. Etiology of acute conjunctivitis in children. *J Pediatr.* 1981;98:531.
4. Leibowitz HM, Pratt MV, Flagstad U, et al. Human conjunctivitis: A diagnostic evaluation. *Arch Ophthalmol.* 1976;94:1747.
5. Jones DB, Liesegang TJ, Robinson NM. Cumitech 13. Laboratory diagnosis of ocular infections. In: Washington JA II, Brewer NS, eds. *Laboratory Procedures in Clinical Microbiology.* Washington, DC: American Society for Microbiology; 1981:1-27.
6. Valenton MJ, Abendanio R. Gonorrhea conjunctivitis. *Can J Ophthalmol.* 1973;8:421.
7. Ratelle S, Keno D, Hardwood M, Etkind PH. Neonatal chlamydial infections in Massachusetts, 1992-1993. *Am J Prev Med.* 1997;13:221-224.
8. DeToledo AR, Chandler JW. Conjunctivitis of the newborn. *Infect Dis Clin North Am.* 1992;6:807-813.
9. Lietman T, Brooks D, Moncada J, et al. Chronic follicular conjunctivitis associated with *Chlamydia psittaci* or *Chlamydia pneumoniae*. *Clin Infect Dis.* 1998;26:1335-1340.
10. Bobo LD, Novak N, Munoz B, et al. Severe disease in children with trachoma is associated with persistent *Chlamydia trachomatis* infection. *J Infect Dis.* 1997;176:1524-1530.
11. Curtis S, Wilkinson GW, Westmoreland D. An outbreak of epidemic keratoconjunctivitis caused by adenovirus type 37. *J Med Microbiol.* 1998;47:91-94.
12. Shulman LM, Manor Y, Azar R, et al. Identification of a new strain of fastidious enterovirus 70 as the causative agent of an outbreak of hemorrhagic conjunctivitis. *J Clin Microbiol* 1997;35:2145-2149.
13. Cooper RJ, Yeo AC, Bailey AS, Tullo AB. Adenovirus polymerase chain reaction assay for rapid diagnosis of conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:90-95. 1998;17:120-123.
14. Herrmann EC Jr, Person DA, Smith TF. Experience in laboratory diagnosis of enterovirus infections in routine medical practice. *Mayo Clin Proc.* 1972;47:577-586
15. Jones DB. Opportunistic fungal infections in ophthalmology. Fungal keratitis. In: Chic ED, Balows A, Furcolow ML, eds. *Opportunistic Fungal Infections.* Springfield, Ill: Charles C Thomas; 1975:103.
16. Wang AG, Wu CC, Liu JH. Bacterial corneal ulcer: A multivariate study. *Ophthalmologica.* 1998;212:126-132.
17. Coster DJ, Wilhelmus KR, Peacock J, et al. Suppurative keratitis in London. In: Trevor-Roper T, ed. *European Society of Ophthalmology. The Cornea, Health, and Disease.* London: Academic Press; 1981:395.
18. Panda A, Sharma N, Das G, et al. Mycotic keratitis in children: Epidemiologic and microbiologic evaluation. *Cornea.* 1997;16:295-299.
19. Wilson LA, Schlitzer RL, Ahearn DG. *Pseudomonas* corneal ulcers associated with soft contact lens wear. *Am J Ophthalmol.* 1981;92:546.
20. Glynn RJ, Schein OD, Seddon JM, et al. The incidence of ulcerative keratitis among aphakic contact lens wearers in New England. *Arch Ophthalmol.* 1991;109:104-107.
21. Wilson LA, Ahearn DG. *Pseudomonas* induced corneal ulcers associated with contaminated eye mascaras. *Am J Ophthalmol.* 1977;84:112.
22. Reid PR, Wood TO. *Pseudomonas* corneal ulcer. The causative role of contaminated eye cosmetics. *Arch Ophthalmol.* 1979;97:1640.
23. Jain S, Azar DT. Eye infections after refractive keratotomy. *J Refract Surg.* 1996;12:148-155.
24. Hutton WL, Sexton RR. Atypical *Pseudomonas* corneal ulcers in semi-comatose patients. *Am J Ophthalmol.* 1972;73:37.

25. Parkin B, Turner A, Moore E, et al. Bacterial keratitis in the critically ill. *Br J Ophthalmol*. 1997;81:1060-1063.
26. Jones DB. Polymicrobial keratitis. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1981;79:153.
27. Asbell P, Stenson S. Ulcerative keratitis. Survey of 30 years laboratory experience. *Arch Ophthalmol*. 1982;100:77.
28. Ma P, Willaert E, Juechter KB, et al. A case of keratitis due to *Acanthamoeba* in New York, and features of ten cases. *J Infect Dis*. 1981;143:662.
29. Mannis NJ, Tamaro R, Roth AM, et al. *Acanthamoeba* scleral keratitis. Determining diagnostic criteria. *Arch Ophthalmol*. 1986;104:1313-1317.
30. Templeton WC, Eiferman RA, Snyder JW, et al. *Serratia* keratitis transmitted by contaminated eyedroppers. *Am J Ophthalmol*. 1982;93:723.
31. Lee P, Green WR. Corneal biopsy: Indications, techniques and a report of 87 cases. *Ophthalmology*. 1990;97:718-721.
32. Boerner CF, Lee FK, Wichliffe CL, et al. Electron microscopy for the diagnosis of ocular viral infections. *Ophthalmology*. 1981;88:1377.
33. Speaker MG, Milch FA, Shah MK, et al. Role of external bacterial flora in the pathogenesis of acute postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology*. 1991;98:639-650.
34. Aaberg TM Jr, Flynn HW Jr, Schiffman J, Newton J. Nosocomial acute-onset postoperative endophthalmitis survey: A 10-year review of incidence and outcomes. *Ophthalmology*. 1998;105:1004-1010.
35. Lam SR, Tuli R, Menezes et al. Bacterial endophthalmitis following extracapsular cataract extraction: Recommendations for early detection. *Can J Ophthalmol*. 1997;32:311-314.
36. Duch-Samper AM, Menezo JL, Hurtado-Sarrio M. Endophthalmitis following penetrating eye injuries. *Acta Ophthalmol Scand*. 1997;75:104-106.
37. Ciulla TA, Beck AD, Topping TM, Baker AS. Blebitis, early endophthalmitis, and late endophthalmitis after glaucoma-filtering surgery. *Ophthalmology*. 1997;104: 986-995
38. Davitt B, Gehrs K, Bowers T. Endogenous *Nocardia* endophthalmitis. *Retina* 1998;18:71-73.
39. Doft BH, Clarkson JG, Febell G, et al. Endogenous *Aspergillus* endophthalmitis in drug abusers. *Arch Ophthalmol*. 1980;98:859.
40. Holland GN, Engstrom RE, Glasgow BJ. Ocular toxoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Ophthalmol*. 1988;106:653-657.
41. Knox CM, Chandler D, Short GA, Margolis TP. Polymerase chain reaction-based assays of vitreous samples for the diagnosis of viral retinitis: Use in diagnostic dilemmas. *Ophthalmology*. 1998;105:37-44.
42. Sullivan JH. Lids and lacrimal apparatus. In Vaughn D, Asbury T, Riordan-Eva P (eds): *General Ophthalmology*, 13th ed. Norwalk, CT, Appleton & Lange, 1992, pp 28-80.
43. Rhem MN, Wilhelmus KR, Jones DB. Epstein-Barr virus dacryoadenitis. *Am J Ophthalmol* 2000;129:372-375.
44. Meyer DR, Wobig JL. Acute dacryocystitis caused by *Pasteurella multocida*. *Am J Ophthalmol* 1990;110:444-445.
45. Boruchoff SA, Boruchoff SE. Infections of the lacrimal system. *Infect Dis Clin North Am* 1992;6:925-932.



XV. INFECCIONES DE LA PIEL

PREVIOUS PAGE BLANK

BEST AVAILABLE COPY



Los procesos infecciosos de la piel son una causa de consulta frecuente, se estima que pueden sobrepasar el 17% de las consultas¹. La mayor parte de las infecciones de la piel son leves o moderadas, pero en ocasiones adquieren tal gravedad que comprometen la vida de los pacientes. En su etiología se encuentran virus, bacterias, hongos y parásitos. Las infecciones bacterianas son las más frecuentes, entre ellas el impétigo, foliculitis, forúnculo, celulitis y erisipela. Las infecciones causadas por hongos se encuentran descritas en el capítulo X.

IMPETIGO

Es una infección altamente contagiosa que se presenta predominantemente en la edad pre-escolar, debiéndose su rápida diseminación entre los niños o varios miembros de una familia al hacinamiento y condiciones higiénicas deficientes. Las dos clásicas formas de impétigo son el buloso y el no buloso o simple. La forma no-bulosa es la más común constituyendo el 70% de los casos. La piel intacta suele ser resistente a las infecciones, pero cuando la piel se lesiona ya sea por abrasiones, rascado, picaduras de insectos o traumas pequeños, ocasiona una disrupción de la piel o alteración de la superficie cutánea, lo que favorece la entrada del *Streptococcus pyogenes*, que tiene una afinidad por los queratinocitos subcorneales, a través de dos proteínas, la M y la F². La varicela, las reacciones a picaduras, abrasiones, laceraciones y quemaduras son factores predisponentes muy conocidos³.

La presentación clínica del impétigo se caracteriza por la presencia de vesículas pe-

queñas o pústulas las cuales evolucionan hacia una pequeña lesión costrosa con gotitas de miel (costras meliséricas). Las lesiones tienen menos de 2 cm de diámetro. Las lesiones pueden resolverse en 2 a 3 semanas sin tratamiento; ocasionalmente pueden hacerse crónicas, pero se resuelven sin dejar cicatriz; producen prurito, no son dolorosas y las manifestaciones sistémicas son mínimas. Vea figura XV-1 y XV-2.

El impétigo no-buloso es una manifestación principal del *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A⁴, sin embargo en los últimos tiempos se han observado como agentes implicados principalmente el *Staphylococcus aureus* y los *Streptococcus* de los grupos B,C y G⁵.

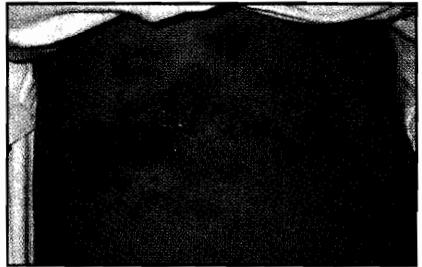


Figura XV-1
Paciente de 2 años de edad con lesiones impétiformes en la zona torácica. La toma de muestra consiste en realizar un hisopado de estas lesiones, previo al levantamiento de las costras.

El impétigo buloso es causado principalmente por *Staphylococcus aureus* del grupo fago II tipo 71. Se presenta principalmente en el recién nacido y en el lactante y representa el 10% de todos los casos de impétigo. Las lesiones inician como vesículas que luego se convierten en bullas flácidas con contenido líquido amarillo claro. Esta ampolla se rompe con facilidad y el lí-

quido que sale al secarse forma una fina capa color café rojiza semejante a una superficie barnizada. En este tipo de impétigo se separan las capas de la piel. El impétigo buloso, el síndrome de piel escaldada y el síndrome escarlatiniforme representan formas de respuesta cutánea a las dos toxinas extracelulares exfoliativas que produce el *Staphylococcus* fagotipo II.

ECTIMA

El ectima es un subtipo de impétigo que se extiende más profundamente que el clásico impétigo, produce una úlcera que llega hasta la dermis, motivo por el cual puede dejar una cicatriz. Se localiza preferentemente en extremidades y se presenta en niños y ancianos. Los factores predisponentes son mala higiene, hacinamiento, desnutrición y traumas preexistentes. Los microorganismos implicados son *S. aureus* y *S. pyogenes*.

TOMA DE LA MUESTRA

Desinfectar la piel, para ello se debe limpiar la parte externa de la lesión con alcohol al 70% para eliminar la flora contami-

nante de la superficie, se levantan las costras más superficiales y de la base de la lesión se toma la muestra. Para el impétigo no buloso y el ectima la muestra se toma con un hisopado de las lesiones. Para el buloso, la toma se realiza a través de la ruptura de las vesículas, ampollas o bullas o por aspiración con una jeringa de tuberculina. Coloque el hisopo en un medio de transporte Stuart y envíe al laboratorio para una tinción de Gram y cultivo. Hay estudios que demuestran un mayor aislamiento de *Staphylococcus aureus*, a éste hay que considerarlo como un invasor secundario y, debido a que posee varias bacteriocinas, pudiera ser que no permita desarrollar con facilidad en los cultivos al *Streptococcus pyogenes*⁶.

FOLICULITIS

Son pequeñas pápulas-pústulas (2 a 5 mm) rodeadas por un eritema y centradas en un folículo piloso y regiones apocrinas. Normalmente están causadas por *S. aureus* sin embargo hay otros agentes etiológicos a ser considerados, como se describen en la tabla XV-1.

Figura XV-2
Pioderma en el brazo. Se aisló de la lesión *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A. El pioderma es un término que indica infección localizada en la piel por *Streptococcus*. Para muchos el término es sinónimo de Impétigo estreptocócico o Impétigo contagioso.



Tabla XV-1

Agentes etiológicos de foliculitis

AGENTE ETIOLÓGICO	FACTOR PREDISPONENTE	SITIOS ANATÓMICOS MAYORMENTE AFECTADOS
<i>Staphylococcus aureus</i>	Irritación e inflamación de la piel Sudoración excesiva	Cara (barba) Cuello Axila Glúteos
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Piscinas o jacuzzi contaminados (cloración deficiente)	Glúteos Caderas Axilas Conducto auditivo externo
Enterobacteriaceas	Acné con tratamientos prolongados de antibióticos	Cara Cuello Espalda
<i>Candida albicans</i>	Post-antibioticoterapia prolongada. Corticoides	Intertrigo
<i>Malassezia furfur</i>	Diabetes mellitus Corticoides Granulocitopenia	Tórax Miembros superiores Cara

FORÚNCULO Y CARBUNCO

El forúnculo es un nódulo profundo y doloroso de color rojizo constituido por un esfácelo o clavo, que a menudo se desarrolla a partir de una foliculitis. Se localiza fundamentalmente en zonas con abundantes folículos pilosos, fricción repetida y gran sudoración, como la cara, el cuello, las axilas y los glúteos y su aparición se favorece por la obesidad, edad avanzada, corticoterapia, alteraciones de la fagocitosis y diabetes. *S. aureus* es el agente etiológico principal. La coalescencia de varios forúnculos contiguos ocasiona una tumefacción extensa y profunda abarcando el tejido celular subcutáneo, con varios orificios por los que se drena la supuración, denominado ántrax o carbunco. La fiebre y el malestar son frecuentes y el paciente puede estar severamente enfermo; las lesiones pueden drenar espontáneamente o no.

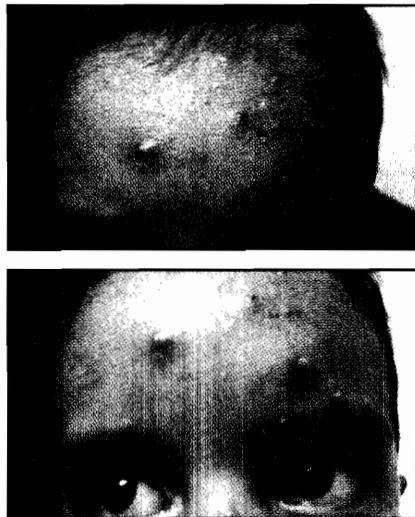


Figura XV-3

Paciente con forúnculos en la frente. La toma de muestra es mediante la punción-aspiración del forúnculo. Colocar el pus en el medio de transporte. Se aisló de estas lesiones un *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina.

Puede haber leucocitosis particularmente cuando contienen gran cantidad de pus que no se ha drenado o cuando se complica con celulitis o bacteriemia. Esta invasión al torrente circulatorio a veces es favorecida por la manipulación de las lesiones

y puede desencadenar endocarditis, osteomielitis u otro foco metastásico. Por ejemplo, un forúnculo localizado en el labio superior o en la punta de la nariz puede diseminarse vía la vena facial y emitiría angular al seno cavernoso.

Tabla XV-2

Agentes etiológicos de Celulitis

AGENTE ETIOLÓGICO	FACTORES PREDISPONENTES
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Herida quirúrgica (6-48 horas después de la cirugía) Laceraciones, Heridas cortopunzantes, Forúnculos, Niños: Lesiones perianales
<i>Staphylococcus aureus</i>	Laceraciones, Heridas cortopunzantes, Forúnculos
<i>Streptococcus grupo C,G</i>	Linfedema de las extremidades secundaria a cirugía pélvica radical, radioterapia Neoplasias que tapan los nodulos linfáticos pélvicos (Vulva áreas inguinales y ambas extremidades)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Recién nacido
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Manipuladores de pescados, mariscos, pollo, carne y piel de animales (manos)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Bacteriemia
<i>Haemophilus influenzae</i>	Bacteriemia (ocular)
<i>Enterobacterias</i>	Inmunocomprometidos Granulocitopenia
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Inmunocomprometidos Granulocitopenia
<i>Legionella spp</i>	Pneumonía Transplante renal
<i>Pasteurella multocida</i>	Mordedura de gato o perro
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Exposición con agua de lagos, ríos y suelos pantanosos Nadar en agua dulce
<i>Vibrio vulnificus</i> <i>Vibrio alginolyticus</i> <i>Vibrio cholerae No-01</i>	Exposición con agua salada Contacto con comida cruda mariscos pescados

TOMA DE LA MUESTRA

El material purulento se recoge, previa descontaminación de la piel, por aspiración con una jeringa de tuberculina o, si ha drenado el material purulento del forúnculo o el carbunco, a través de un hisopado. Colocar el pus en un medio de transporte y enviar al laboratorio para coloración Gram y cultivo.

CELULITIS

Es una infección de la dermis que involucra al tejido celular subcutáneo, caracterizada por una extensa lesión eritematosa, edematizada, de bordes pocos precisos, caliente y dolorosa que se acompaña de una adenopatía regional satélite, fiebre y malestar general. Las extremidades inferiores son los sitios frecuentes. Vea figura XV-4. Los agentes etiológicos más comunes son *S. pyogenes* y *S aureus*. Su aparición se favorece por traumatismos y la existencia previa de úlceras o forúnculos. Complicaciones relativamente habituales son la bacteriemia y la tromboflebitis. Los agentes etiológicos de la celulitis se encuentran en la tabla XV-2.

TOMA DE LA MUESTRA

Debido a que el diagnóstico es clínico y en la mayoría de casos, la celulitis es causada por *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pyogenes* la toma de muestra está indicada ante la sospecha de patógenos no comunes o en caso de celulitis en pacientes inmunocomprometidos. La toma de muestra se realiza a tra-

vés de una punción aspiración con aguja fina del borde de la lesión. Se introduce 1 ml de suero salino en el límite de la celulitis y se aspira. Este material se envía a laboratorio para coloración Gram y cultivo. También se puede realizar una biopsia de piel y hemocultivos. La punción con aguja fina es una técnica que logra el aislamiento del patógeno en apenas un 30%⁷, por este motivo Sachs⁹ indica que la toma de muestra es únicamente útil cuando hay una zona fluctuante en la celulitis para poder ser aspirada, y debe ser realizada cuando se sospecha un patógeno no frecuente y hay un fracaso en la terapia antimicrobiana inicial. En la mayoría de ocasiones el material recuperado es escaso y no conviene colocarlo en un medio de transporte, en este caso se debe enviar en la misma jeringuilla sin la aguja. Obturar la jeringui-

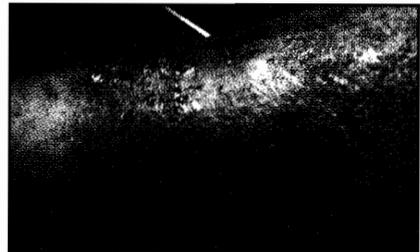


Figura XV-4
Celulitis. En estos casos no tome la muestra mediante hisopado. Debe realizar punción aspiración.

lla con un capuchón plástico y enviarla en un recipiente rígido que no permita el desplazamiento del émbolo.

ERISPELA

Es una lesión más superficial que la celulitis causada sobretodo por *S. pyogenes*, pero también pueden ser agentes etiológicos el *Streptococcus* grupo C y G°. Se presenta por una placa indurada, de bordes ligeramente sobrelevados, de color rojo brillante, con el aspecto típico de piel naranja, dolorosa y caliente. La fiebre y los escalofríos son muy comunes y preceden a la lesión local. Es común que afecte la cara y cuero cabelludo, las manos y los genitales.

Los factores predisponentes son: Tiñas, eczemas, úlceras, heridas punzantes, quemaduras, diabetes mellitus y malnutrición. El diagnóstico de la celulitis y de la erisipela es generalmente clínico sin embargo una tinción Gram y cultivo a menudo ayudan cuando está implicado un microorganismo no usual.

TOMA DE LA MUESTRA

Se realiza mediante una aspiración con aguja fina al igual que para celulitis.

ERITRASMA

Es una infección bacteriana superficial de la piel del área genitocrural, caracterizada por una diseminación lenta, pruriginosa, con máculas café-rojizas. Se presentan con frecuencia en individuos obe-

sos o con diabetes mellitus. El agente etiológico es el *Corynebacterium minutissimum*¹⁰. El diagnóstico suele hacerse clínicamente con la exposición de las lesiones a una lámpara de Wood que arroja una coloración fluorescente roja coral.

La toma de la muestra se realiza con un hisopado de la lesión para coloración Gram y cultivo. Podremos observar abundantes bacilos Gram positivos pleomórficos.

PIE DIABÉTICO Y OTRAS ÚLCERAS CRÓNICAS SUPERFICIALES

Las infecciones crónicas en pacientes con diabetes mellitus son comunes. Generalmente inician con un trauma menor en pacientes con neuropatía periférica, úlceras neuropáticas e insuficiencia arterial vascular; éstas pueden ocasionar celulitis, necrosis de los tejidos blandos u osteomielitis con fístula o seno de drenaje. El pie diabético puede ser clasificado en:

1. Infecciones superficiales, sin toxicidad sistémica, con una pequeña celulitis de 2 cm de la puerta de entrada y,
2. Infecciones profundas con una extensa celulitis, linfangitis, úlcera profunda que toma el tejido celular subcutáneo e isquemia permanente.

TOMA DE LA MUESTRA

Está indicada una biopsia de tejido profundo. Si esto no es posible se puede tomar una muestra con curetaje de la base de la úlcera o del exudado purulento. No envíe hisopados superficiales. El

Tabla XV-3

Infecciones sistémicas con manifestaciones dérmicas

MICROORGANISMOS	LESIÓN	TOMA DE MUESTRA
<i>Staphylococcus aureus</i>	Púrpura purulenta o una pequeña área de púrpura con una zona central blanquecina purulenta	Aspiración del contenido de la zona central para Gram y cultivo.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Vesículas y ampollas Ectima gangrenoso Nódulos subcutáneos Celulitis gangrenosa Lesiones maculares y macupapulares	Aspiración del contenido Hisopado de la lesión Punción aspiración Aspiración aguja fina Aspiración aguja fina
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Lesiones son pústulas rodeadas de una zona purpúrica, máculas pápulas vesículas purpúricas ampollas e infartos purpúricos. Son dolorosas y se localizan escasamente en las zonas distales de las extremidades	Punción-aspiración de las lesiones
<i>Neisseria meningitidis</i>	Máculas eritematosas petequias púrpura y equimosis localizadas en tronco y extremidades Pueden confluir las lesiones petequiales y purpúricas	Punción aspiración de las petequias para Gram y cultivo
<i>Salmonella typhi</i>	Manchas rosáceas Son ligeramente elevadas, de 1 a 3 mm pápulas rosadas en grupos de 20 a 30 localizadas en abdomen, espalda y parte baja del tórax	Punción aspiración con aguja fina
<i>Haemophilus influenzae</i>	Celulitis en cara cuello, y extremidades superiores	Toma por punción-aspiración con aguja fina
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Celulitis en pacientes inmunocomprometidos	Toma por punción-aspiración con aguja fina

FUNGEMIA

<i>Candida albicans</i>	Maculo pápulas rosadas algunas veces blanquecinas en el centro Se localizan en tronco y extremidades aunque también puede encontrarse en cuero cabelludo	Toma por punción-aspiración con aguja fina
-------------------------	---	--

principal problema en la toma de la muestra es que por lo regular el pie diabético se presenta como una úlcera y suele estar contaminada con flora del medio externo, los abscesos son poco frecuentes y cuando están presentes éstos pueden ser aspirados. No se recomienda realizar aspirados a través de la piel sana pues tienen una muy baja pro-

bilidad de recuperar al agente etiológico, lo ideal es la muestra de toma a través de la úlcera, en el quirófano, descontaminando la lesión y eliminando todo el tejido superficial por debridamiento y luego por curetaje o punción se toma el tejido necrótico profundo. Algunos pacientes pueden desarrollar osteoemielitis, en este caso es necesaria la toma de una

biopsia del hueso a través de la piel sana.

Los microorganismos implicados en el pie diabético son generalmente *Staphylococcus aureus*, en la mayoría de casos, *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B, bacilos Gram negativos facultativos, *Enterococcus* y entre los anaerobios *Bacteroides spp*¹¹, en el caso de las infecciones superficiales y en el caso de ser más extensas y profundas siempre son polimicrobianas¹².

ÚLCERAS DE DECÚBITO

Las úlceras de decúbito son complicaciones frecuentes de los pacientes hospitalizados y geriátricos con reposo prolongado, traumatizados, o con trastornos neurológicos. Más del 90% de estas úlceras se encuentran en la región sacra¹³.

Los microorganismos implicados en las úlceras de decúbito son microorganismos aerobios y anaerobios debido a que generalmente están localizadas cerca al ano y esto da la oportunidad de invasión por flora fecal principalmente. Por esto están involucrados *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus spp* y una variedad de bacilos gram negativos tipo enterobacterias. Además estos pacientes suelen tener incontinencia urinaria y fecal

lo cual también contribuye a las infecciones polimicrobianas con predominio de flora fecal¹⁴.

TOMA DE LA MUESTRA

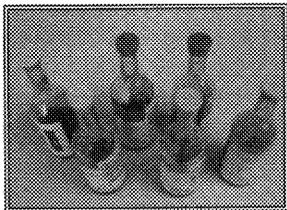
Se realiza a través de la punción aspiración del rodete inflamatorio peri-escara, punción aspiración del material purulento profundo o toma de tejido profundo por debajo del tejido necrótico. NO TOME muestras obtenidas por hisopado de la lesión o de muestras de material superficial pues se aislarán únicamente microorganismos colonizadores superficiales.

INFECCIONES SISTÉMICAS CON MANIFESTACIONES DÉRMICAS

En ciertos procesos infecciosos sistémicos se presentan manifestaciones dérmicas como pápulas, vesículas, ampollas, celulitis, etc. Por lo general se puede aislar al agente causal de la bacteriemia o fungemia al cultivar la lesión observada en la piel. La toma puede hacerse a través de la punción-aspiración de la lesión dérmica. Las diversas manifestaciones que se presentan en la piel por infecciones sistémicas se encuentran descritas en la tabla XV-3.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tunnessen WW Jr. A survey of skin disorders seen in pediatric general and dermatology clinics. *Pediatr Dermatol.* 1980;1:219-222
2. Okada N, Pentland AP, Falk P, et al. M Protein and protein F as important determinations of cell-specific tropism of *Streptococcus pyogenes* in skin tissue. *J Clin Invest.* 1994;94:965
3. Fekery FRJ. The epidemiology and prevention of staphylococcal infection. *Medicine;* 1964; 43:593-613.
4. Esterly NB, Nelson DB, Dunne WM Jr. Impetigo *Am J Dis Child.* 1991;145:125.
5. Ferrieri P, Dajani AS, Wannamaker LW, et al. Natural history of impetigo. I. Site sequence of acquisition and familial patterns of spread of cutaneous streptococci. *J Clin Invest.* 1972;51:2851
6. Dajayani AS, Wannamaker LW. Experimental infection of the skin in the hamster simulating human impetigo. III. Interaction between staphylococci and group A streptococci. *J Exp Med.* 1971;134:588
7. Sigurdsson AF, Gundmundsson S. The etiology of bacterial cellulitis as determined by fine-needle aspiration. *Scand J Infect Dis.* 1989;21:537
8. Sachs MK. The optimum use of needle aspiration in the bacteriologic diagnosis for cellulites in adults. *Arch Intern Med.* 1990; 150:1907
9. Shama S, Calandra GB. Atypical erysipelas caused by group G streptococci in a patient with cured Hodgking's disease. *Arch Dermatol.* 1982;118:934-936
10. Sindhuphak W, MacDonald E, Smith EB. Erythrasma: Overlooked or misdiagnosed. *Int J Dermatol.* 1985;24:95
11. Gerding DM. Foot infections in diabetes: Role of anaerobes. *Clin Infect Dis.* 1995;20:5283
12. Wheat LJ, Allen SD, Henry M, et al. Diabetic foot infections: Bacteriologic analysis. *Arch Intern Med.* 1986;146:1935
13. Allman RM. Pressure ulcers among elderly. *N Engl J Med.* 1989;320:850.
14. Brandeis GH, Morris JN, Nash DJ, et al. The epidemiology and natural history of pressure ulcers in elderly nursing home residents. *JAMA.* 1990;264:2905



XVI. HEMOCULTIVOS



El hemocultivo es una de las pruebas más importantes del laboratorio de microbiología, pues a través de él podemos establecer con certeza el diagnóstico etiológico de bacteriemia o fungemia, en pacientes con o sin foco aparente de infección. El cultivo de la sangre nos permite llegar a la identificación del microorganismo causal y podremos realizar estudios de sensibilidad a los antimicrobianos y elegir el tratamiento más eficaz.

La mayoría de los microorganismos son capaces de invadir el torrente sanguíneo causando una bacteriemia o una fungemia. La etiología de las bacteriemias ha variado a lo largo del tiempo. Así en los últimos años, los microorganismos Gram positivos, especialmente estafilococos y enterococos, igualan o superan en frecuencia a los bacilos Gram negativos aislados en antaño^{1,2}. El diagnóstico definitivo de la bacteriemia se establece cuando al cultivar la sangre se aísla un microorganismo.

La bacteriemia puede ser una complicación de infecciones localizadas como infección urinaria, respiratoria, o de la piel, etc., puede deberse a la entrada directa de los microorganismos al torrente cardiovascular como en el caso de pacientes adictos a drogas, portadores de catéteres intravasculares y sometidos a cirugía cardíaca, o en ciertos casos la puerta de entrada puede ser inaparente. Dependiendo del grupo poblacional estudiado puede variar entre 5 y 30 casos por cada 1000 pacientes hospitalizados. Todas las edades están predispuestas, pero especialmente se presenta en los pacientes con graves enfermedades de base y los sometidos a maniobras que causan alteraciones de los mecanismos generales y locales de defensa frente a la infección. Las manifestaciones clínicas de las bacteriemias son muy variadas y van desde un cuadro febril, sin ninguna otra manifestación clínica, hasta el shock séptico con fracaso multiorgánico.

TOMA DE LA MUESTRA

La toma de la muestra de hemocultivo se realiza a través de la extracción de sangre por venopunción, previa adecuada limpieza de la zona de la piel a puncionar. El procedimiento de extracción difiere según los hospitales; mientras en algunos es responsabilidad de un equipo de flebotomistas, en otro depende del personal de enfermería, en otros casos de los residentes e internos y en otros del personal del laboratorio. En cualquier caso, durante la extracción y el procesamiento de los hemocultivos se deberán tomar las medidas de protección adecuadas para evitar la adquisición de infecciones como

Bacteriemia es la presencia de bacterias en la sangre que se pone de manifiesto por el aislamiento de éstas en los hemocultivos. La bacteriemia puede ser intermitente (aislamiento de una bacteria en sangre en forma discontinua, sin un cuadro clínico aparente, es difícil de establecer y carece de interés en la práctica), o continua, se presenta por lo general en pacientes hospitalizados como una complicación grave de una infección bacteriana, con importantes implicaciones pronósticas.

hepatitis e infección por VIH. Es imperioso que el microbiólogo vigile constantemente el adecuado cumplimiento de las normas de extracción y si hay problemas, él se encargará de la capacitación y educación del personal responsable de la toma de hemocultivos³. Este entrenamiento está dirigido a evitar, en la medida de lo posible, la contaminación de los hemocultivos con la flora de la piel del paciente. El personal que toma la muestra debe tener el conocimiento exacto de las normas a seguir y cumplirlas. En ningún caso, la toma de muestra debe ser realizada por personal inexperto.

El material necesario para la extracción debe estar listo en una bandeja de trabajo y debe contener:

- Antiséptico povidona yodada (Betadine®)
- Alcohol isopropílico al 70%,
- Jeringas de 20 ml.,
- Agujas para venopunción,
- Gasas o torundas de algodón
- Guantes estériles,
- Venditas
- Frascos de hemocultivo para aerobios y anaerobios previamente rotulados con el nombre del paciente, el número de cama, la sala, la hora de la extracción y número de la historia clínica. Recuerde no escribir sobre el código de barras si el frasco las tuviere.

Cada una de las muestras de sangre se obtendrá de venopunciones diferentes y los puntos se seleccionarán previamente. Las venas del antebrazo son las que se utilizan generalmente para este fin. No se ha comprobado que existan ventajas entre cultivar sangre arterial o venosa. La

extracción de la sangre no debe realizarse a través de catéter, salvo en los casos de sospecha de sepsis asociada a éste, descrita en el capítulo XIII.

Para la extracción de la sangre proceda de la siguiente manera:

1. Informe al paciente sobre el procedimiento.
2. Lávese las manos y séquese correctamente.
3. Limpie rigurosamente el punto elegido de la piel con alcohol isopropílico o etílico al 70%.
4. Extienda sobre el mismo punto, tintura de yodo al 1 ó 2% durante 30 segundos o povidona yodada durante 1 minuto. En pacientes alérgicos al yodo, la piel se limpiará dos veces con alcohol. La limpieza se realiza en forma excéntrica, de dentro hacia fuera, sin volver al centro. Es importante esperar a que el compuesto yodado se seque para que ejerza su acción oxidante, por lo tanto no lo limpie mientras este húmedo.
5. No palpe con los dedos el lugar de la venopunción, y no hable o tosa mientras realiza la extracción. A veces no se puede evitar palpar la vena, si esto sucede es indispensable que el dedo del operador se someta al mismo procedimiento de limpieza y desinfección.
6. Colóquese los guantes.
7. Inserte la aguja en la vena elegida para extraer el volumen de sangre determinado.
8. Decontamine el tapón de goma con alcohol antes de puncionar la botella y espere que se seque.
9. Extraída la sangre, inocúela rápida-

mente para evitar la coagulación de la sangre en la jeringa atravesando el tapón de la botella con la aguja en posición vertical. Antes de realizar la extracción se limpiarán con un antiséptico los tapones de los frascos de hemocultivo. Si está utilizando un sistema al vacío (Vacutainer®) puede inocular directamente la sangre en las botellas del sistema BACTEC, Organon Technika u otro sistema. El vacío que incorpora este tipo de frascos succiona rápidamente el contenido de la jeringa y se retira la aguja del frasco al momento que deja de salir la sangre.

- 10.No es indispensable el cambio de aguja, previa la inoculación de la sangre en el frasco. Sin embargo, este punto es controversial, pues el metanálisis de Spitalnic demuestra que es útil⁴.
- 11.Colocar la torunda en el sitio de la punción, mantener con presión por unos minutos y colocar una vendita adhesiva.
- 12.Si la vena se pierde durante la extracción, utilizar un nuevo equipo de aguja y jeringa.
- 13.Los hemocultivos se enviarán inmediatamente al Laboratorio de Microbiología. Si no es posible, se incubarán en estufa a 35-37°C. Si no se dispone de ésta, se dejarán a temperatura ambiente, nunca refrigerar. Las muestras se transportan a temperatura ambiente. La incubación debe realizarse lo antes posible, pudiendo tardar como máximo 2 horas desde que se tomó la muestra.
- 14.No obtenga una muestra a través del catéter venoso central pues estudios de microscopia electrónica han reve-

lado que el 100% de los catéteres se colonizan con microorganismos de la piel a las 48 horas de instalados⁵. Este método está indicado solo en caso de sepsis asociada al catéter, es un protocolo especial (Ver capítulo XIII).

Se recomienda una dilución 1/10. La dilución de la sangre es necesaria con el fin de neutralizar las propiedades bactericidas de ésta y el posible tratamiento antimicrobiano del paciente. Diluciones superiores no son aconsejables aunque pueden ser aceptadas, sobre todo en el caso de neonatos y lactantes. El volumen de sangre a cultivar admitido en general para adultos es de 10 ml por extracción, aunque algunos autores recomiendan 20 ó 30 ml. En recién nacidos y prematuros 1 ml., en lactantes de 2 a 3 ml., en preescolares y escolares 3 a 5 ml., y en adolescentes 10 ml.

De acuerdo a los últimos estudios, la cantidad de sangre se considera una de las variables más críticas en el aumento de la positividad de los hemocultivos. Es bien conocido que la mayoría de las bacteriemias son de baja magnitud (<1 a 10 ufc/ml). Por lo tanto, a mayor volumen de muestra obtenido mayor es la sensibilidad del hemocultivo. Se sabe que por cada ml adicional de muestra que se inocular en la botella aumenta la positividad entre un 2 a 5%. Mermel y Maki⁶ demostraron una disminución significativa ($p < 0.001$) de la positividad de los hemocultivos cuando se obtenían en promedio 2,7 ml (69%) versus 8,7 ml (92%).

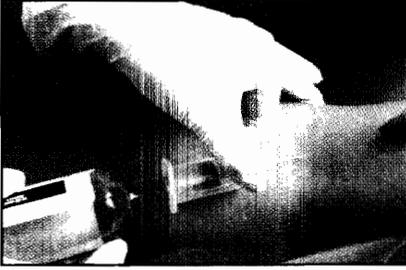


Figura XVI-1
Extracción de sangre a través
de sistema cerrado Vacutainer.
Se inocula directamente en el
frasco de hemocultivo, pues es
al vacío.

Es aconsejable extraer la sangre antes de comenzar el tratamiento antimicrobiano. Si esto no es posible se utilizarán los frascos de hemocultivos que contengan resinas (sistemas automatizados) que neutralizan los antimicrobianos que recibe el paciente. Se recomienda cultivar 2 hemocultivos en 24 horas con un intervalo entre ellas de 30 a 90 minutos⁸. En casos de meningitis, shock séptico, se puede tomar un set de 2 hemocultivos con un intervalo de 30 minutos o menos. Si el paciente va a requerir inicio de tratamiento antimicrobiano inmediato, se puede obtener dos hemocultivos al mismo tiempo, de diferentes sitios de punción. Si se sospecha endocarditis infecciosa, se recomienda obtener el primer set de 2 hemocultivos y si estos van negativos en las primeras 24 horas, obtener un segundo set de 3 hemocultivos más⁹.

Lo ideal es tomar la muestra en el momento en que la concentración de bacterias en sangre es mayor, éste al parecer es entre media hora y dos horas antes de la aparición del pico febril, como esto en la práctica es difícil de predecir la extracción se realiza cuando la temperatura aumenta por encima de 38.5°C. Para los sistemas manuales y

automatizados dos hemocultivos son recomendados¹⁰. La obtención de 2 hemocultivos en 24 horas no sólo aumenta la probabilidad de recuperar las bacterias a partir de la sangre sino que también permite diferenciar una bacteriemia verdadera de una contaminación. En ningún caso se recomienda la obtención de sólo un hemocultivo, salvo la última indicación que es la de evaluar los hemocultivos únicos, como control de calidad en microbiología¹¹.

Es incierta la frecuencia en la que los hemocultivos deberían ser tomados de los pacientes con fiebre de origen desconocido. La práctica aceptada es tomar una muestra diaria mientras persista la fiebre pero esto puede ser innecesario debido a que la recuperación puede ser muy baja. Una práctica más apropiada es tomar una muestra diaria durante los tres primeros días de fiebre y luego pasando 2 a 3 días, mientras la fiebre persiste.

Existen diversas condiciones clínicas que requieren hemocultivos, pero hay situaciones en las cuales los hemocultivos no pueden faltar, pues aportan información valiosa^{12,13}, éstas son:

1. Fiebre alta, especialmente si se

acompaña de afectación grave del estado general sin foco aparente de infección.

2. Sospecha de endocarditis.
3. Neutropénicos que presentan fiebre.
4. Neonatos y adultos mayores, sin fiebre, con deterioro de su situación. En ellos suele en ocasiones cursar la bacteriemia con hipotermia.
5. Estado de shock no explicado por causas hemodinámicas.
6. Infecciones localizadas que pueden complicarse con bacteriemia como neumonía, pielonefritis, meningitis, infecciones intraabdominales, infecciones graves de la piel o tejido celular subcutáneo, etc.
7. La presencia de leucopenia, leucocitosis o trombocitopenia no relacionada con procesos hematológicos.
8. Antecedentes de drogadicción intravenosa.

Hay varios tipos de frascos de hemocultivo, los clásicos o convencionales para el crecimiento de microorganismos aerobios y anaerobios. Los optimizados para pequeños volúmenes de sangre, útiles en pediatría. Los que contienen resinas que neutralizan la acción de los antibióticos que recibe el paciente. Los selectivos para hongos, que pueden ser utilizados en casos específicos. Los tubos para lisis centrifugación.

Existen tres métodos para la realización de los hemocultivos, éstos varían en la sensibilidad y rapidez con que detectan las bacterias en sangre y son: los métodos manuales o convenciona-

les, los semiautomatizados o lisis centrifugación y los automatizados¹⁴ como BACTEC, BacT/Alert, Septicheck, etc.

SISTEMAS MANUALES

Las botellas de hemocultivo deben contener SPS (polianetol sulfonato de sodio) al 0,025% o al 0,05% como anticoagulante y como inhibidor de la actividad bactericida del suero, del complemento, además que neutraliza lisozimas y la fagocitosis. También tiene la particularidad de inhibir la actividad de los aminoglucósidos. Este método tiene como desventajas que el SPS inhibe el crecimiento de *Peptostreptococcus*, *Gardnerella* y algunas cepas de *Neisseria spp.*, y además tiene mayor riesgo de contaminación pues requieren ser aireados y pinchados para las tinciones y subcultivos.

LISIS CENTRIFUGACIÓN

Este método semicuantitativo utiliza un tubo de lisis especial "sistema vacutainer", contiene varios elementos:

1. SPS como anticoagulante,
2. saponina como agente lítico de eritrocitos, leucocitos y macrófagos
3. polipropilenglicol como antiespumante y
4. un fluoroquímico inerte de alta densidad.

La sangre se centrifuga a alta velocidad lo que permite la concentración de microorganismos en el sedimento¹⁵. Éste se siembra directamente en las cajas o placas Petri con los medios de cultivo

específicos. La ventaja de este método es que permite una valoración semicuantitativa por recuento de colonias aisladas y consigue mejorar en un 25 a 50% la detección de hongos levaduriformes y filamentosos, facilita la detección de bacteriemias por *Mycobacterium* (en pacientes HIV), es igualmente útil para *Legionella* y permite la realización de hemocultivos cuantitativos para diagnóstico de bacteriemia relacionada a catéter venoso central. La desventaja es que requiere manipulación de la muestra con la consiguiente posibilidad de contaminación y se debe procesar tubo por tubo, aumentando la necesidad de personal de laboratorio¹⁶.

SISTEMAS AUTOMATIZADOS

Estos consisten básicamente en un incubador, asociado a un computador y las botellas con diversos medios de cultivo (aeróbico, anaeróbico, hongos y micobacterias.) Estas botellas pueden o no contener resinas que capturan al antibiótico. Vea figura XVI-2. El equipo incuba, agita constantemente las muestras y monitorea continuamente el crecimiento microbiano. Este se basa en la detección de productos del metaboli-

smo bacteriano (CO₂) mediante técnicas radiométricas, espectrofotométricas, fluorométricas y/o colorimétricas. El computador asociado a los equipos relaciona las mediciones con índices y/o gráficos de crecimiento microbiano que dan un aviso sonoro, cuando la detección sobrepasa un punto de corte. Una vez que el equipo da la señal de crecimiento, las botellas son retiradas del equipo para hacer una tinción de Gram. El resultado de esta tinción, es informado al médico tratante en forma inmediata, vía telefónica.

También se efectúa un subcultivo a medios sólidos para obtener colonias aisladas y pruebas de identificación y sensibilidad a los antimicrobianos. La ventaja de estos sistemas automatizados es la velocidad en la detección de las bacterias en sangre, un aumento en la sensibilidad, disminución notable en la carga de trabajo, así como disminución en la contaminación de los frascos. Dependiendo del equipo, permite también hacer análisis epidemiológicos. Una desventaja es el costo de las botellas. De todas formas estos sistemas han permitido mejorar la capacidad diagnóstica en bacteriemias y un uso más racional de la terapia antimicrobiana¹⁷.



Figura XVI-2
Equipo automatizado BACTEC 9120.

Cada extracción se acompañará de la respectiva hoja de solicitud en la que constarán, al menos, los siguientes datos: nombre del paciente, fecha y hora de extracción, servicio de procedencia, número de cama, nombre del médico que realiza la petición, diagnóstico, fiebre, si está inmunodeprimido, si está cateterizado de larga duración o con nutrición parenteral y tratamiento antibiótico previo.

PROCESAMIENTO

El procedimiento convencional que se lleva a cabo en la mayoría de los laboratorios de Microbiología Clínica, es el siguiente:

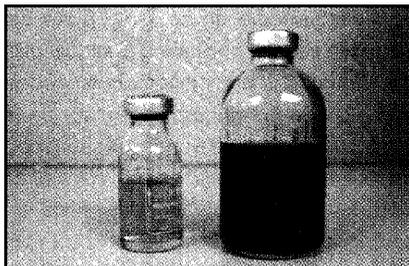
El frasco del hemocultivo debe examinarse diariamente por inspección visual para detectar lo antes posible los signos de crecimiento bacteriano: turbidez, hemólisis, producción de gas. Apenas se observe cualquier signo de crecimiento, se debe pinchar el hemocultivo y extraer un poco de caldo para la realización de una coloración de Gram, o naranja de acridina y subcultivos en los agares y en un caldo de tioglicolato. Se incubará los subcultivos a 35°C durante 72 horas.

Ventilación de los frascos aerobios a las 18 o 24 horas de incubación mediante la inserción de una aguja previa la desinfección del tapón de caucho. No olvidar que, en caso de existir crecimiento bacteriano, el aumento de la presión en el interior del frasco puede provocar que el líquido se proyecte al exterior con riesgo de contaminación para la persona que lo está procesando. Esto debe realizarse debido a que los medios comerciales permiten el crecimiento de la mayoría de las bacterias y están provistos de vacío. En el caso de ciertos

microorganismos aerobios como *Pseudomonas*, hongos, el crecimiento se acelera con la incubación en atmósfera aerobia. Por ello, se deben ventilar los frascos aerobios para crear la atmósfera que facilite su crecimiento. En el caso de utilizarse frascos difásicos (botellas con una capa de agar y caldo, o fase sólida y líquida) se observará el crecimiento en la fase sólida. La mayoría de los microorganismos que causan bacteriemia se detectan en los primeros 2 ó 3 días de incubación. Por ello, se recomienda incubar los hemocultivos durante un período de 5 a 7 días. La temperatura óptima de incubación es de 35 a 37°C. El día anterior a la salida del hemocultivo, se debe realizar una punción final. Existen algunos microorganismos que necesitan un período de incubación más largo, como *Brucella* y bacterias de difícil crecimiento que causan endocarditis, como *Haemophilus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella* que requieren de 1 a 2 semanas de incubación. También los hongos necesitan la incubación de los hemocultivos hasta 4 semanas.

El hemocultivo tiene una importancia esencial, no solo porque establece con certeza el diagnóstico etiológico, sino también porque la identificación del microorganismo causal y el estudio de su sensibilidad a los antimicrobianos permite elegir el tratamiento más eficaz. Por ello, el diagnóstico de las bacteriemias y fungemias, con un adecuado procesamiento de los hemocultivos, es una de las funciones más importantes del Laboratorio de Microbiología Clínica.

Figura XVI-3.
Frascos de hemocultivos convencionales. Necesitan aireación o ventilación a las 18 a 24 horas de incubación mediante la inserción de una aguja previa desinfección del tapón de caucho



MICROORGANISMOS ESPECIALES

Bartonella henselae

Es el agente etiológico de la angiomatosis bacilar en pacientes con SIDA y de la enfermedad por arañazo de gato. El método recomendado para su aislamiento en sangre es el de lisis-centrifugación con cultivo del sedimento en agar sangre de cordero con atmósfera de 5 % de CO₂, por un período de incubación de al menos 7 días¹⁸.

Brucella spp.

Los sistemas automatizados disponibles en la actualidad permiten una buena recuperación de *Brucella*. También lisis-centrifugación es un método de elección que recupera *Brucella* mejor que el tradicional método de Castañeda. Es necesario en los casos en que existe la sospecha clínica de *Brucella*, que la muestra se incuba hasta 30 días en atmósfera con 5-10% CO₂, y en el caso de los sistemas automatizados, se recomienda el subcultivo ciego terminal a los 7 y 14 días¹⁹.

Campylobacter spp.

Se recupera bien a partir de los sistemas automatizados y por lisis-centrifugación, sin embargo el subcultivo debe ser en medios suplementados para lograr el aislamiento del microorganismo e incubados a

la temperatura y atmósfera que requiere esta bacteria fastidiosa¹⁸.

HACEK

El término HACEK es un acrónimo para un grupo de bacilos gram negativos fastidiosos que incluyen a *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* y *Kingella kingae*. Estas bacterias se recuperan en hemocultivos de pacientes con endocarditis infecciosa, aunque pueden aislarse a partir de otros focos infecciosos. Las recomendaciones para los hemocultivos en que exista la sospecha clínica de infección por HACEK son: mantener la incubación inicial por 7 a 14 días y efectuar subcultivo terminal a los 7 y 14 días²⁰.

Legionella spp

Hay pocos casos descritos de bacteremia por *Legionella*. En sistemas automatizados se requieren los subcultivos terminales ciegos en medios de cultivos suplementados.

Leptospiras

Esta variedad de espiroquetas está presente en la sangre en la fase aguda, durante la primera semana de la enfermedad. El cultivo para aislarla no es el de los frascos convencionales ni en los automatizados.

Se realiza añadiendo de 1 a 3 gotas de sangre fresca del paciente a 5 ml. del medio de Stuart o a los medios semisólidos de Fletcher o Ellinghausen. Previamente a la inoculación de la sangre añadiremos suero fresco de conejo a una concentración del 14%. La incubación se hace en oscuridad, a 30°C durante 28 días. Se examina una vez a la semana en campo oscuro una parte del cultivo para la observación de las formas espiroquetales y su movilidad.

Micobacterias

Los casos en que está indicado investigar micobacteriemia son los pacientes portadores del VIH, pues presentan con relativa frecuencia bacteriemia por micobacterias²¹, generalmente con muy poca sintomatología o muy inespecífica. Las técnicas más apropiadas para ello son el Sistema Lisis Centrifugación y/o el Sistema BACTEC radiométrico utilizando los medios 12A y 13 A o el Sistema BACTEC MGIT. Es posible también hacer una combinación de ambos: procesar la sangre por la técnica de lisis/centrifugación y sembrar después en los viales del BACTEC con el fin de acortar el período de incubación. También se puede centrifugar el contenido de los frascos aerobio y anaerobio tras su incubación 5-7 días y sembrar el sedimento obtenido en medios específicos para micobacterias.

Streptococcus Nutricio-deficientes

Algunas cepas de *Streptococcus viridans* son dependientes de piridoxal (vitamina B6) para su crecimiento. El piridoxal está presente en la sangre humana y permite el desarrollo de estos microorganismos en el medio de hemocultivo, pero como este elemento no se encuentra presente en los me-

dios en que se realiza el subcultivo, estos deben ser suplementados con piridoxal al 0,001%, o L-cisteína al 0,05-0.1% o ambos. Se debe sospechar la presencia de estos microorganismos cuando se observa al Gram la presencia de cocos Gram positivos y no se obtiene desarrollo en los subcultivos en diferentes atmósferas (aerobia-anaerobia). Si esto no es posible, se puede sembrar cruzando la superficie del agar con *Staphylococcus aureus*, la técnica similar utilizada para el *Haemophilus* y observar el satelitismo alrededor del *Staphylococcus*.

PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH

Cada vez es mayor el número de pacientes atendidos en los centros hospitalarios portadores del VIH, un alto porcentaje de los cuales son adictos a drogas por vía parenteral y, al mismo tiempo han aumentado considerablemente los enfermos con SIDA²². Es bien conocido que el estado inmunitario de estos pacientes condiciona una elevada incidencia de infecciones oportunistas, estimándose en este grupo de población un índice de bacteriemia entre el 7,2 y el 30%, cuya etiología más frecuente es *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*

Además, este tipo de enfermos presentan infecciones oportunistas diseminadas causadas por micobacteria, hongos o parásitos que pueden detectarse mediante hemocultivo. Así, son frecuentes las infecciones diseminadas por *Mycobacterium avium*, *Cryptococcus neoformans* y *Leishmania donovani* e *Histoplasma capsulatum* y donde la prevalencia de la tubercu-

losis es elevada, es habitual aislar *Mycobacterium tuberculosis*²³.

Por lo tanto, es aconsejable notificar siempre al laboratorio de microbiología si un paciente es portador de VIH porque puede ser conveniente prolongar el período de incubación de los frascos aerobios o hacer cultivos especiales según la orientación diagnóstica del proceso infeccioso.

INFORMACIÓN DE LOS RESULTADOS

La información de los resultados, preliminares o definitivos, se realizará con la mayor rapidez posible ya que de ella derivarán posiblemente cambios en el tratamiento que pueden ser vitales para el pronóstico del paciente. Existen tres informes:

1. El resultado del examen diario de cada hemocultivo que generalmente es verbal.
2. El resultado de la tinción de Gram, en caso de ser positiva, se informará telefónicamente al médico tratante o a la enfermera, si es posible, también por escrito.
3. La identificación definitiva de los microorganismos aislados y el resultado de su sensibilidad a los antibióticos se enviará por escrito.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El microbiólogo realizará una interpretación de los resultados basada en la identidad del microorganismo, el número de cultivos positivos, las manifestaciones clínicas y el tratamiento antibiótico previo que

haya recibido el paciente. Para ello es indispensable la relación con el médico responsable del paciente con el que intercambiará información del cuadro clínico. En forma general se considera que la presencia de un *Staphylococcus* coagulasa negativo, *Streptococcus* del grupo *viridans*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* o *Bacillus* en un solo frasco de una serie de tres hemocultivos supone a menudo la existencia de contaminación²⁴. Se acepta un porcentaje de contaminación que varía entre un 2 a 3% y representa costos muy altos para las instituciones y los pacientes. La información clínica es básica, de lo contrario la interpretación de los resultados por parte del microbiólogo puede estar sujeta a errores. La decisión final del significado clínico de un hemocultivo positivo, depende en última instancia de la presentación clínica y del curso de la enfermedad en un paciente determinado.

Clásicamente se ha establecido que un 94% (153/163) de *Staphylococcus* coagulasa negativo aislados de un sólo hemocultivo, corresponden a contaminaciones. Lo mismo ocurre en el 94 % (17/18) de *Bacillus* spp., 99% (73/74) de *Propionibacterium acnes*, 79% (26/33) de *Corynebacterium* spp., 50% (8/16) de *Clostridium perfringens* y 48% (12/25) de *Streptococcus viridans*. Sin embargo, estos pueden ser considerados patógenos cuando se aíslan en hemocultivos múltiples, cuando corresponden a pacientes inmunosuprimidos o a pacientes portadores de dispositivos protésicos como catéteres venosos centrales, prótesis ortopédicas, prótesis vasculares o válvulas de derivación ventrículo-peritoneal²⁵. En la actualidad *Staphylococcus* coagulasa negativo es la principal causa de bacteriemia intrahospitalaria

y la mayoría de las veces se relaciona al uso de catéteres venosos centrales²⁶. Se considera como bacteriemia verdadera cuando se aísla el mismo microorganismo

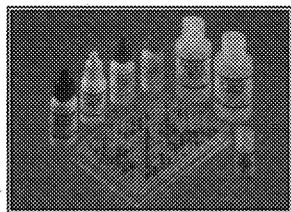
en varios hemocultivos, aunque éstos sean microorganismos colonizadores de la piel.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chandrasekar PH, Brown WJ. Clinical Issues of blood cultures. Arch. Intern. Med. 1994; 154:841-849. 8. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Vol. 1, 1993.
2. Zurita J, Noriega V, Vargas A.C., et al. Hemocultivos positivos: Un estudio de seis años en un hospital de tercer nivel con énfasis en los patrones de sensibilidad antimicrobiana. Rev Fac Med.2003;28(1):32-42
3. Gibb AP Hill B, Cholel B et al. Reduction in blood culture contamination rate by feedback to phlebotomists. Arch. Pathol. Lab. Med .1997; 121:503-507.
4. Spitalnic SJ, Woolard RH, Mermel LA. The significance of changing needles when inoculating blood culture: a meta-analysis. Clin. Infect. Dis. 1995;21:1103-1106.
5. Raad I, Costerton W, et al. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. J. Infect. Dis.1993;168:400-407
6. Mermel LA, Maki DG. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. Ann. Intern. Med. 1993;119:270-272.
7. Arpi M, Bentzon MW, Jensen J, Frederiksen W. Importance of blood volume cultured in the detection of bacteriemia. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1989; 8: 838-842.
8. Weinstein MP; Reller LB; Murphy JR Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood culture: A comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. Rev. Infect. Dis. 1983;5:35-53.
9. Washington JA. Collection, transport and processing of blood culture. Clin. Lab. Med. 1994; 14:59-68
10. Weinstein MP; Joho KL; Quartey SM. Assessment of the third blood culture bottle: Does it increase detection of bacteremia? 94th General Meeting of the American Society for Microbiology. Las Vegas Mayo 23-28, 1994.
11. Schiffman RB, Bachner P, Howanitz PJ. Blood culture quality improvement. A College of American Pathologist Q-Probes study involving 90 institutions and 289.572 blood culture set. Arch. Pathol. Lab. Med. 1996;120: 999-1002.
12. Bates DW., Cook EF., Goldman L and Lee TH. Predicting bacteremia in hospitalized patients. A prospective validated model. Ann Int. Med. 1990;113:495-500
13. Reimer LG., Wilson ML and Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. Clin. Microbiol. Rev. 1997;10:444-465.
14. Wilson ML, Weinstein MP. Reller LB. Automated blood culture systems. Clin. Lab. Med. 1994;14:149-169.
15. Brannon P, Kiehn TE. Large-scale clinical comparison of the lysis-centrifugation and radiometric systems for blood culture. J. Clin. Microbiol. 1985; 22: 951-954.
16. Dorn GL, Smith K. New centrifugation blood culture device. J. Clin. Microbiol. 1978;7:52-54.
17. Arbo MD; Snyderman DR. Influence of blood culture results on antibiotic choice in the treatment of bacteremia. Arch. Intern. Med. 1994;154:2641-2645.
18. Wilson ML, Mirret S. Recovery of Select rare and fastidious microorganisms from blood culture. Clin. Lab. Med. 1994;14:119-131

19. Solomon HM, Jackson D. Rapid Diagnosis of *Brucella melitensis* in blood: some operational characteristics of the BacT/Alert. J. Clin. Microbiol. 1992;30:222-224.
20. Wilson WR, Karchmer AW, Dajani AS, et al. Antibiotic treatment of adults with infective endocarditis due to *streptococci*, *enterococci*, *staphylococci*, and HACEK microorganisms. American Heart Association. JAMA 1995;274:1706-1713.
21. Macher AM, Kovacs JA et al. Bacteremia due to *Mycobacterium avium-intracellulare* in the acquired immunodeficiency syndrome. Ann. Intern. Med. 1983; 99:782-785
22. Ruiz I, Almirante B, Ocaña I et al. Bacteriemias y fungemias en pacientes con SIDA. Estudio de 56 episodios. Enf. Infec. Microbiol. Clin. 1990; 8: 22-26.
23. Bouza E, Díaz-López MD, Moreno S, Bernaldo de Quirós JC, Vicente T, Berenguer J. *Mycobacterium tuberculosis* bacteremia in patients with and without Human Immunodeficiency Virus Infection. Arch Intern Med. 1993; 153: 496-500.
24. Shifman RB, Pindur A. The effect of skin disinfection materials on reducing blood culture contamination. Am J. Clin. Pathol. 1991;99:536-538.
25. Rupp ME, Archer GL. Coagulase-negative *Staphylococci*: Pathogen associated with medical progress. Clin. Infect. Dis. 1994;19:231-245.
26. Kloos WE, Bannerman TL. Update on Clinical significance of coagulase-negative *Staphylococci*. Clin. Microbiol. Rev. 1994;7:117-140.





XVII. PRUEBAS INMUNOLÓGICAS EN LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Camilo Zurita Salinas, Inmunólogo

BEST AVAILABLE COPY

PREVIOUS PAGE BLANK



La infección es el proceso de colonización e invasión de microorganismos, ya sea en el interior o en la superficie de un huésped, en consecuencia estos patógenos pueden vivir, dividirse y multiplicarse en el huésped, producir toxinas y otras sustancias o permanecer en estado de latencia, y su resultado final es la enfermedad¹. El huésped por su parte genera una respuesta mediante el sistema inmune. Éste induce un conjunto de mecanismos para reconocer, neutralizar, eliminar o metabolizar a los microorganismos. En este proceso se generan moléculas y reacciones que se pueden detectar en el laboratorio, que son importantes en la prevención, tratamiento y monitoreo de las infecciones. Las aplicaciones de las pruebas inmunológicas son:

- el diagnóstico de la enfermedad,
- el diagnóstico de la enfermedad crónica,
- la determinación del estado inmunitario, y
- el control de seguimiento

La inmunidad contra las infecciones está mediada por la inmunidad innata y por la específica (humoral y celular). En la respuesta inmune específica contra el microorganismo se generan:

Anticuerpos IgG: su presencia indica una infección previa o inmunización, son de larga duración, el inconveniente es que no da información sobre la infección aguda o actual.

Por otro lado, es útil recordar que los anticuerpos maternos IgG específicos que se transfieren a través de la placenta hacia el feto, producen protección contra

las infecciones en las primeras etapas de la vida³.

Anticuerpos IgM: son producidos en pocos días y en ocasiones semanas después de la entrada del antígeno. Su presencia indica exposición reciente en la mayoría de los casos. Estos anticuerpos persisten dependiendo de la infección entre 1 mes (Parvovirus B19) y hasta dos años (*Toxoplasma gondii*), pero lo más frecuente es que persistan aproximadamente entre 3 a 6 meses después de la infección.

Por lo general, en la infección aguda aparece primero el anticuerpo IgM y posteriormente el anticuerpo IgG (en la toxoplasmosis aparece IgM aproximadamente en 3-7 días después de la infección y los anticuerpos IgG aproximadamente en 1 a 2 semanas).

Anticuerpos IgA: son considerados como marcadores de exposición reciente, pero en algunos casos indican infección crónica. Una sola determinación, es de valor clínico, sin embargo, la titulación seriada de estos anticuerpos, puede aclarar aún más el diagnóstico^{4,6}.

Las diversas técnicas inmunológicas han facilitado el diagnóstico rápido de las enfermedades infecciosas y están orientadas principalmente a la búsqueda de antígenos o de anticuerpos en muestras biológicas (i.e. suero, LCR, heces, orina, células o tejidos) y a evaluar la competencia inmunológica determinando si un paciente posee células de memoria que reconocen a un patógeno particular (es decir, evidencia de infección previa).

En su conjunto las pruebas en inmunología se resumen: en **el diagnóstico serológico** (detección de anticuerpos), que requieren en la mayoría de los casos de sueros en fase aguda y en recuperación; en **la detección de antígenos** y en las **pruebas de inmunidad celular** (ensayos *in vitro*, pruebas cutáneas, etc.), en otras técnicas para documentar la integridad del sistema inmune. Recientemente, los métodos de biología molecular como sondas, PCR son útiles y complementan al estudio inmunológico, pero no están disponibles en todos los laboratorios. Por lo mencionado anteriormente, es innegable la ayuda de la inmunología en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades infecciosas y en el tamizaje epidemiológico^{2,4}.

Las técnicas de detección de anticuerpos y antígenos no requieren de alta tecnología ni equipos especiales (en la mayoría de casos) y son relativamente fáciles de realizar. Se debe recordar que los anticuerpos necesitan un determinado tiempo para una elevación significativa de los títulos. Así, es necesario repetir la muestra (2 a 4 semanas) para evaluar el incremento en la titulación de 2 a 4 veces (*i.e.* *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, etc.). Mientras que los antígenos pueden ser detectados des-

de el inicio de la enfermedad independientemente del tratamiento y de la viabilidad del microorganismo. La detección del antígeno depende de los determinantes antigénicos, estos son de gran apoyo por su rapidez pero no sustituyen a los cultivos. La técnica más usada es la aglutinación, donde se utiliza partículas de látex cubiertas con anticuerpos específicos, que reaccionan con los antígenos presentes en la muestra; así, para criptococosis, se utiliza partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-polisacáridos de la cápsula del *Cryptococcus neoformans*, que provocan una aglutinación visible cuando está presente este hongo en el LCR o en el suero del paciente. Ver Figura XVII-1. En caso de meningitis, se puede detectar en el LCR la presencia de antígenos de *Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* (tipo A, B, C, W e Y) y de *Streptococcus beta hemolítico* del grupo B. Existen varias metodologías para la búsqueda de antígeno en las infecciones micóticas. Vea tabla XVII-1.

Figura XVII-1
Prueba de látex aglutinación para detección de antígeno de ***Cryptococcus neoformans*** en líquido Cefalorraquídeo.

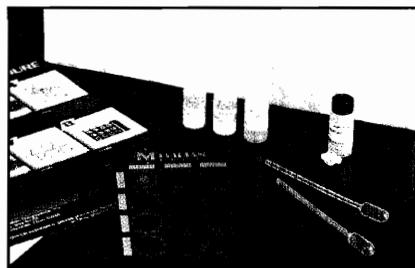


Tabla XVII-1

Pruebas inmunológicas para antígenos en el diagnóstico de algunas enfermedades micóticas.

ENFERMEDAD	PRUEBAS		
	ID	AL	RIA
Aspergilosis			*
Candidiasis	*		
Coccidioidomicosis			
Criptococis	*	*	
Histoplasmosis			*

* ID= Inmunodifusión, AL= Aglutinación en Látex, RIA= Radioinmunoensayo.

Otras enfermedades micóticas pueden también ser detectadas mediante anticuerpos con las mismas metodologías o con otras, como por ejemplo, fijación del complemento, pruebas inmunoenzimáticas, entre otras como en Blastomycosis, Coccidioidomicosis, Esporotricosis, entre otras.

Además, las técnicas para búsqueda de antígenos y anticuerpos son la siguientes: el inmunoanálisis es utilizado ampliamente en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, las cuales tienen diferente sensibilidad y especificidad; así tenemos inmunoprecipitación, aglutinación, hemaglutinación, fijación del complemento, inmunotransferencia, pruebas inmunoenzimáticas con todas sus variantes, inmunofluorescencia, microinmunofluorescencia, quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia,⁴⁷. Vea la tabla XVII-2. La cuantificación y determinación de leucocitos de sangre periférica que expresan antígenos virales mediante anticuerpos monoclonales o la detección de antígenos virales en la superficie celular o intracelular mediante citometría de flujo²⁶.

Pruebas de aglutinación: es un método donde el antígeno o el anticuerpo se adhiere a una superficie sólida; esta prueba puede hacerse en un tubo o por gotas en un portaobjetos. Estas pruebas son se-

micuantiativas. Cuando se usan eritrocitos se llama hemaglutinación (prueba de hemaglutinación para *Treponema pallidum*, TPHA). Ciertos virus aglutinan los eritrocitos de algunas especies. Esta acción puede ser inhibida por anticuerpo dirigido en forma específica contra el virus (es decir, inhibición de la hemaglutinación), efecto que puede usarse para medir la presencia y concentración del anticuerpo.

Fijación del complemento: la formación de complejos inmunitarios en solución puede monitorearse midiendo la capacidad de tales complejos para fijarse y consumir proteínas del complemento, se emplea para detectar anticuerpos contra agentes infecciosos. Por ejemplo: - anticuerpos antifúngicos (coccidioidomicosis, histoplasmosis), - anticuerpos antivirales (adenovirus, herpes virus, influenza), - anti- *Mycoplasma pneumoniae*, - anti- rickettsias.

Radioinmunoanálisis: cuantifica antígenos que pueden ser marcados con ra-

dioactividad. Se basa en la competencia por el anticuerpo específico en una concentración conocida de material marcado y una concentración desconocida de material no marcado.

Pruebas inmunoenzimáticas (EIA): método que tiene muchas variantes, se fija una cantidad determinada de anticuerpo o de antígeno en la fase sólida, se incuba con diluciones de suero del paciente, se lava e incuba de nuevo con una anti-inmoglobulina marcada con una enzima. La actividad enzimática es medida por la adición del sustrato específico con desarrollo de color. Esta metodología detecta una amplia variedad de agentes infecciosos.

Inmunofluorescencia: anticuerpos específicos conjugados con marcadores fluo-

rescentes se utilizan como sondas para la detección de antígenos, también se detecta anticuerpos. El uso simultáneo de grupos de anticuerpos monoclonales marcados de manera diferente como método de detección de antígenos es una práctica rutinaria en la citometría de flujo.



Figura XVII-2
Inmunofluorescencia directa para la detección de Virus del Sarampión.

BEST AVAILABLE COPY

Tabla XVII-2

Microorganismos que se detectan por métodos inmunológicos en diferentes muestras clí-

MICROORGANISMOS	MUESTRA	TÉCNICAS DISPONIBLES
BACTERIAS		
<i>Streptococcus pyogenes</i> (SBHGA)	Sec. faríngea*, suero	Prueba rápida*, PA, EIA, IC
<i>Haemophilus influenza</i> tipo b	LCR, suero	PA, RIA, EIA, RABA.
<i>Neisseria meningitidis</i>	LCR, otros fluidos	EIA, HA, FC, RABA, PA, CIE
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	LCR, orina, respirat.	EIA, RIA, OPA, PA (LCR), IC (orina).
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Suero	EIA, HP; prueba de Schick.
<i>Brucella</i> spp.	Suero	PA
<i>Clostridium difficile</i>	Heces	PA, EIA.
Enterobacteriaceae y Vibrionaceae	Fluidos	PA, EIA, HP
<i>Helicobacter pylori</i>	Suero, heces	EIA, EIA* (heces)
Enterobacteriaceae <i>Treponema pallidum</i>	Suero	VDRL, TPHA, FTA-abs
<i>Borrelia</i> spp.	Suero	EIA, IFA, IT
<i>Leptospira</i> spp.	Suero	IHA, PA

MICROORGANISMOS	MUESTRA	TÉCNICAS DISPONIBLES
VIROS		
Rotavirus	Suero, heces	EIA, IC, Prueba rápida*
Adenovirus	Heces, fluidos	IC (heces, respiratorias) PA (heces), IFD (respiratorias).
Virus herpes simple	Suero, lesiones cutáneas	EIA, IFD
Virus sincitial respiratorio	Muestras respiratorias	IC, IFD
Virus influenza	Muestras respiratorias	IC, IFD
Virus parainfluenza	Muestras respiratorias	IFD
VIH	Suero	IC, EIA*, Prueba rápida, IT**
Virus de Varicela Zoster	Lesiones cutáneas, Suero	IFD, EIA
Citomegalovirus	Suero, orina, otros	IFD, EIA
Virus de Epstein Barr	Suero	EIA, PA
Rubéola	Suero	EIA
Virus de la Hepatitis A, B, C, D	Suero, heces	EIA, IT, RIA

PARÁSITOS

<i>Plasmodium spp</i>	Sangre	Prueba rápida *
<i>Giardia lamblia</i>	Heces	IFD*, EIA*
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Suero	EIA, HA, PA
<i>Entamoeba histolytica</i>	Heces, suero	EIA, EIA*.
<i>Leishmania spp</i>	Suero	IF, EIA
<i>Toxoplasma gondii</i>	Suero, otros	EIA, HA, IF
<i>Taenia solium</i>	LCR, suero	EIA, IT
<i>Cryptosporidium</i>	Heces	EIA*, IF*
<i>Oncocerca volvulus</i>	Suero	EIA (IgE)

HONGOS

<i>Aspergillus</i>	Suero, otros	ID, RIA*
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Suero	FC, EIA, ID, PA, RIA*
<i>Candida spp.</i>	Suero, otros	EIA*, ID
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Suero, otros	EIA*, PA*
<i>Coccidioides immitis</i>	Suero	FC, EIA, ID, PA.
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Suero	FC, ID
<i>Sporothrix schenckii</i>	Suero	EIA, PA
<i>Pneumocystis jirovecii (carinii)</i>	Muestra respiratorias	ID, IFD

* Para detección del antígeno, PA= Prueba de aglutinación, EIA= prueba inmunoenzimática, RIA= radioinmunoensayo, HA= hemaglutinación, FC= Fijación del complemento, RABA= Prueba de unión de radioantígeno, CIE= contraelectroforesis, OPA= Prueba de opsonofagocítica, IC= inmunocromatografía, IF= Inmunofluorescencia, IFD= Inmunofluorescencia directa, HP= hemaglutinación pasiva, ID= Inmunodifusión, IT= inmunotransferencia, VIH= virus de inmunodeficiencia humana.

** Prueba confirmatoria.

Las técnicas de diagnóstico rápido basadas en la detección de la respuesta inmunológica (especialmente anticuerpos) con sensibilidad y especificidad elevadas son: Rosa de Bengala (Brucelosis), detección de anticuerpos heterófilos (Mononucleosis infecciosa), el VDRL o RPR (Sífilis), entre otros. Es importante recordar que otras pruebas llamadas rápidas basadas en la inmunocromatografía, anticuerpos marcados con oro coloidal (comercialmente disponibles en cartuchos, tanto para antígenos como para anticuerpos), son útiles en ciertos casos, porque su sensibilidad y especificidad suelen ser bajas, por lo que no se recomienda utilizar en forma rutinaria para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas.

Recientemente se han aplicado técnicas de genética molecular aplicadas a la detección de virus y otros microorganismos en muestras de tejidos, ya que tales microorganismos con frecuencia pueden ser reconocidos e identificados positivamente por sus secuencias de RNA ó DNA singulares, con mucha mayor rapidez y especificidad que las convencionales. Los microorganismos importantes desde el punto de vista inmunológico que se analizan en la actualidad incluyen el virus de Epstein-Barr, de la inmunodeficiencia humana, papilomavirus, hepatitis C, entre otros, así como también parásitos y/o bacterias (i.e. *Toxoplasma gondii*, *Mycobacterium tuberculosis*, *H. pylori*, en otros)^{8,12}.

FUENTES DE ERROR EN LAS PRUEBAS INMUNOLÓGICAS PARA DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES

La principal fuente de error es el inadecuado manejo de las muestras; la recolección y el almacenamiento de las muestras tam-

bién son críticos. Puede existir reacción cruzada entre ciertos virus (i.e. parainfluenza y virus de las paperas), o ciertas condiciones clínicas o fármacos (i.e. carcinomas, cirrosis, corticoides, ciclosporina) que inducen anergia (en las pruebas de hipersensibilidad).

En el manejo de la muestra es necesario recordar lo siguiente:

- El suero debe separarse del coágulo en cuanto sea posible.
- El suero puede mantenerse a temperatura ambiente si va a procesarse dentro de las tres horas.
- El suero puede mantenerse en refrigeración 24 a 48 horas, si no se procesa en este período es necesario guardar en congelación a -20°C por un lapso de dos a seis meses. Para tiempos más largos a -80°C .
- No es recomendable la descongelación y recongelación sucesiva. La muestra debe descongelarse una vez. Por lo que es necesario alícuotar la muestra^{13,17}.

El transporte de la muestra desde el lugar de obtención hasta el laboratorio, así como desde el laboratorio para un laboratorio de referencia, requiere de la estabilidad de la muestra. Este transporte es importante para un resultado óptimo¹³.

Para que un resultado sea confiable se debe tener en cuenta los siguientes puntos:

- No se debe utilizar sueros hemolizados, contaminados o lipémicos.
- Evitar la evaporación del suero.
- Transporte y conservación de la muestra^{14,16,17}.
- Realizar un control de calidad tanto interno como externo.

No se necesita una preparación especial

del paciente para la realización de pruebas inmunológicas (detección de anticuerpos, pruebas cutáneas, ensayos *in vitro*). Es recomendable guardar el suero congelado, para su uso posterior en otros estudios serológicos o para realizar las pruebas serológicas pareadas (fase aguda y convalecencia). Éstas deben procesarse simultáneamente.

En relación con los diferentes líquidos corporales, por lo general no necesitan cuidado especial, excepto la utilización de una técnica de asepsia durante su recogida y procesamiento, como el caso del líquido cefalorraquídeo¹⁷. Las muestras para el examen deben ser representativas del proceso patológico y su cantidad adecuada. Hay que recordar: todo el material biológico debe ser considerado peligroso y manejado con cuidado. El diagnóstico definitivo de las infecciones se obtiene por la identificación del agente etiológico de un espécimen clínico; pero no siempre es posible que un cultivo sea positivo, por lo que las pruebas serológicas son importantes para el diagnóstico¹⁸.

PRUEBAS PARA BÚSQUEDA DE ANTÍGENOS Y/O ANTICUERPOS EN MUESTRAS, OTRAS QUE SUERO

Existen pruebas comercializadas para la búsqueda de antígenos o anticuerpos en muestras que no sean sueros sanguíneos. Estas muestras pueden ser efusiones como LCR, pleural, o muestras como orina, heces, secreciones faríngeas, aspirados nasofaríngeos, muestras uretrales o del cérvix uterino, etc.

En relación con la faringe, la muestra se

debe tomar de la faringe posterior, amígdalas o cualquier área purulenta. Se han comercializado varias pruebas rápidas para la detección del antígeno estreptocócico del grupo A. Estas pruebas son específicas, pero su sensibilidad varía directamente según el número de microorganismos presentes en la muestra. Por lo que resulta prudente que la realización de estas pruebas rápidas sean confirmadas por los cultivos¹⁵. Vea capítulo I. En relación con las infecciones de tracto respiratorio existen pruebas para la detección de antígenos de Influenza A y B, para virus sincitial respiratorio y Adenovirus. Vea capítulo II.

En las muestras uretrales o cervicales se puede detectar *Neisseria gonorrhoeae* mediante inmunoanálisis; pero en los exudados uretrales masculinos se encuentra la misma sensibilidad que el frotis con la tinción Gram. La sensibilidad del inmunoanálisis para detectar la *N. gonorrhoeae* en la muestra cervical es menor que la del cultivo y su especificidad puede alcanzar al 80 %^{12,15}. Vea capítulo IX.

A pesar de que hay varias formas de recoger la muestra de orina (i.e aspiración suprapúbica, cateterización, entre otras), la más adecuada para el análisis inmunológico es la recogida directamente en un recipiente de rosca adecuado, obtenida del chorro medio y transportada al laboratorio en menos de 2 horas, en caso contrario, se debe refrigerar la muestra. Se ha demostrado la utilidad del antígeno para *Streptococcus pneumoniae* en orina únicamente para detectar neumonías en adultos. Al igual que el antígeno de *Legionella* spp., en una muestra de orina se puede observar las leptospiras mediante campo oscuro, pero no es tan sensible como la

búsqueda de antígenos. Con otros métodos esta prueba es útil, especialmente cuando los cultivos son negativos. Se puede obtener muestras mucocutáneas para el diagnóstico del virus de Varicela-Zoster. En este sentido, se debe obtener mediante raspado vigoroso en la base de la lesión y absorber el líquido de la vesícula. Estas muestras así obtenidas deben ser colocadas en el medio de transporte viral y ser procesadas dentro de 24 horas, las mismas que se procesan mediante inmunofluorescencia directa o indirecta²⁰. Estudios han demostrado una buena sensibilidad y especificidad para la detección directa de antígenos virales de la Varicela-Zoster en las células obtenidas del raspado de lesiones, mediante el uso de anticuerpos monoclonales^{21,22}. También se puede detectar antígenos urinarios de *Trypanosoma cruzi* mediante ELISA de captura²⁴. No se necesita procedimiento especial para la obtención de la muestra.

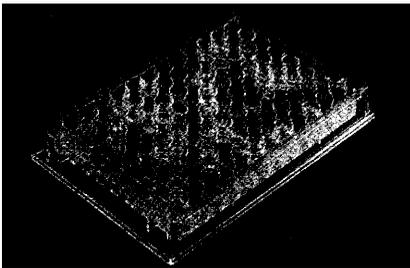


Figura XVII-3
Búsqueda de antígeno de *Helicobacter pylori* en muestra de heces mediante técnica MicroElisa.

Se ha utilizado un método directo de inmunofluorescencia para demostrar los anticuerpos para bacterias urinarias, Thomas y colaboradores¹⁹ demostraron una buena correlación entre la presencia o ausencia de bacterias unidas a anticuerpos y la lo-

calización de la infección, que se situaría en el riñón y la vejiga respectivamente. Actualmente no se realizan de rutina. Las pruebas de aglutinación que utilizan como antígeno suspensiones comerciales de leptospiras muertas y conservadas mostrarán titulaciones crecientes durante la segunda o tercera semana de la enfermedad²⁵.

El laboratorio debe recibir el LCR en un frasco estéril, el cual será procesado de acuerdo a lo solicitado y una parte se utilizará para el estudio microbiológico y otra para el diagnóstico serológico. En este sentido se han desarrollado pruebas rápidas para el diagnóstico de la meningitis bacteriana; así, la contrainmunoelectroforesis ha sido sustituida por la coagulación y la aglutinación en látex, que ofrecen más rapidez y sencillez en la realización. Para detectar el antígeno de *Haemophilus influenzae* en el LCR en el momento de la valoración inicial, ambas pruebas son positivas en el 80 % de casos. Estas pruebas son menos sensibles para detectar *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus* grupo B²³. Un título aumentado de la fijación del complemento en el LCR es de ayuda diagnóstica de meningitis coccidiosa, misma que es negativa en el cultivo²⁴.

Para obtener el máximo beneficio para el paciente con alguna enfermedad infecciosa es importante establecer su diagnóstico para instaurar el tratamiento adecuado, esto es posible gracias al apoyo del laboratorio de Microbiología como del laboratorio de Inmunología. La colaboración entre el laboratorio y el médico tratante es indispensable para el beneficio del paciente. El médico debe familiarizarse con estos conceptos generales expuestos para opti-

mizar los recursos y dar un diagnóstico oportuno.

El informe del resultado debe ser claro, rápido y preciso. La medicina analítica moderna tiende a ofrecer informes interpreta-

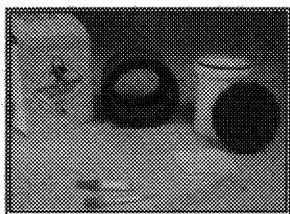
tivos. El inmunólogo no solo debe ofrecer resultados, sino también colaborar en la interpretación de su significado, aunque esto por el momento en general en América Latina es limitado y controversial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Washington J.A. II. Bacteria, Fungi, and Parasites. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Second Edition. A Wiley Medical Publication. 1999.
2. Parslow T. Respuesta Inmunitaria. En: Inmunología básica y clínica. Décima Edición. Manual Moderno. 2002.
3. Snapper C. Finkelman F. Immunoglobulin Class Switching. In Fundamental Immunology. Lippcott-Raven. 1999.
4. Paul W. The Immune System. An Introduction. In: Fundamental Immunology. Fourth Edition. Lippcott-Raven. 1999
5. Janeway Ch. Travers P. Walport M. Shlomchik M. Inmunobiología. El Sistema Inmunitario en condiciones de Salud y Enfermedad. Segunda edición. Masson. 2003.
6. Abbas A., Lichtman A., Pober J. Inmunología Celular y Molecular. Tercera edición. Madrid. 1999
7. Guercu A. Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación. Cuarta Edición. El Ate-neo. 1988.
8. Ambinder R. Mann. Epstein-Barr-encoded RNA in situ hybridization. Diagnostic applications. Hum. Pathol. 1994;25:602-605.
9. Schiffman M Kiviat N, Burk K. Et. al. Accury and interlaboratory reliability of human papillomavirus DNA testing by hybrid capture. J Clin Microbiol. 1995;33:545-550.
10. Birkenmeyer L. Mushawar I. Detection of hepatitis A, B and D virus by polimerasa chain reaction. J. Virol Methods. 1994; 49:101-112.
11. Beige J, Lokies T, Schaberg U. Et.al. Clinical evaluation of a Mycobacterium tuberculosis PCR assay. J. Clin Microbiol. 1995;33: 90-95
12. Rose N, Conway de Macario E, Folds J, Lane C, Nakamura R. Manual of Clinical Laboratory Immunology. Fifth Edition ASM Press. 1997.
13. Moran L. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Mejoría continua de la etapa preanalítica. Editorial Médica Panamericana. 2001.
14. Kaplan I, Pesce A. Química clínica, Técnicas de laboratorio-fisiopatología-Métodos de Análisis; teoría, análisis y correlación. Editorial Medica Panamericana. 1988.
15. Henry J.B. [Todd.Sanford-Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. Novena Edición. Ediciones Científicas y Técnicas. 1993.
16. Sonnenwirth L.C. Jarett L. Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. Eighth edition. 1980.
17. Lynch M.J. Métodos de laboratorio. Segunda edición. Nueva Editorial Interamericana. 1977.
18. Amich S, Salve M.L. Prieto S. Manual de Laboratorio clínico diagnóstico. Inmunología. Mc Graw Hill Interamericana. 2001.
19. Thomas V. Shelokov A. Forland M. Antibody-coated bacteria in the urine and the site of urinary-

- tract infection. *N Engl. J. Med.* 1974;290:11-15.
20. Pérez J.L. García A. Niubo J, et al. Comparison of techniques and evaluation of three commercial monoclonal antibodies for laboratory diagnosis of Varicella-Zoster virus in mucocutaneous specimens. *J. Clin Microbiol.* 1994;32:1610-1613.
 21. Drew W, Mintz L. Rapid Diagnosis of varicella-zoster virus infection by direct immunofluorescence. *Am. J. Clin. Pathol.* 1980; 73:699-701.
 22. Schmidt N, Gallo D, Devlin J, et al. Direct immunofluorescence staining for detection of herpes simplex ad varicella-zoster virus antigens in vesicular lesions and certain tissue specimens. *J. Clin Microbiol.* 1980;12:651-655.
 23. Wilson C B, Smith A.L. Rapid test for the diagnosis of meningitis. In: Remington J.S, Swart M N. *Current Clinical Topics in Infectious Diseases. Vol.7* Mc Graw-Hill 1986.
 24. Corral R, Altcheh J, Alexandre S, et al. Detection and characterization of antigens in urine of patients with acute, congenital, and chronic Chagas' disease. *J Clin Microbiol.* 1996;34:1957-1962.
 25. Patterson T. Drutz D. Enfermedades micóticas. En. *Inmunología básica y clínica. Décima Edición. Manual Moderno.* 2002.
 26. McSharry J. Uses of Flow cytometry in Virology. *Clin Microbiol Rev.* 1994; 7:576-604.





**XVIII. EMBALAJE Y TRANSPORTE DE MUESTRAS POR
VÍA AÉREA Y SUPERFICIE**



BEST AVAILABLE COPY

PREVIOUS PAGE BLANK

Las muestras biológicas, sean infecciosas o no, deben estar correctamente empaquetadas y etiquetadas para su transporte y envío. Este transporte es cada vez más frecuente debido a que muchos procedimientos microbiológicos a veces no pueden ser procesados en el lugar de la toma de muestras y deben hacerlo en lugares lejanos a éste. Este transporte puede ser de un hospital a otro, de un centro de salud a un hospital, de un laboratorio a otro, dentro de la misma ciudad o a otra ciudad. El envío a un centro de referencia nacional o internacional, o a otro centro hospitalario es cada vez más utilizado por la tendencia a centralizar las pruebas de laboratorio, por costos. El transporte debe cumplir con las regulaciones internacionales para reducir al mínimo posible el riesgo de accidentes. Las normas para el transporte de material infeccioso están basadas en las Recomendaciones del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el Transporte de Artículos Peligrosos. Estas recomendaciones están incluidas en las regulaciones de la Unión Postal Universal (UPU)¹, La Organización Internacional de Aviación (OIA) y la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA 2002)², todas ellas asesoradas por la OMS. La Guía para el transporte de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos, publicada por la OMS³ en 1997, permite un conocimiento detallado de los requerimientos específicos para las diferentes situaciones que se pueden plantear ante el envío de material biológico, estos son:

1. Cantidad de sustancias infecciosas que pueden enviarse en un paquete.
2. Tipos de etiquetas de riesgo para

sustancias infecciosas y para microorganismos genéticamente modificados.

3. Tipos de etiquetas de riesgo para microorganismos no infecciosos.
4. Etiquetas para envío con dióxido de carbono (hielo seco).
5. Información que debe figurar en la etiqueta.
6. Normas para envío con refrigerantes (dióxido de carbono y nitrógeno líquido).
7. Ejemplos de formato de los documentos de envío (los originales pueden obtenerse de la compañía transportadora).

Todo material es transportable si cumple con las normas. Actualmente, las muestras se clasifican en: a) sustancias infecciosas (considerados dentro de uno de los cuatro grupos de riesgo definidos por la OMS) y b) en muestras para diagnóstico.

Es importante conocer estas definiciones al momento de realizar el transporte. Una sustancia infecciosa es definida de acuerdo a las Recomendaciones de Naciones Unidas vigentes sobre el Transporte de Artículos Peligrosos⁴, como: "una sustancia que contiene un microorganismo viable, tal como bacteria, virus, rickettsia, parásito, hongo o microorganismo recombinante, híbrido o mutante que se sabe o se cree en forma razonable que causa enfermedad en humanos o animales". (Los "priones" no se incluyen en esta definición, a pesar de ser considerados agentes infecciosos). Una muestra diagnóstica es definida, según el documento WHO/EMC/ 97.3, como: "Cualquier

material humano o animal incluyendo, entre otros, excretas, secreciones, sangre o sus componentes, tejidos y fluidos orgánicos, colectados con el propósito de hacer un diagnóstico. "Una muestra diagnóstica es sinónimo de muestra clínica⁵. La OMS³ especifica que una muestra diagnóstica que se produce para la práctica o la investigación médica se considera de riesgo insignificante para la salud pública y que no se requiere declaración de artículo peligroso ni etiquetado de sustancia infecciosa para su transporte.

Una sustancia infecciosa puede ser clasificada en cuatro categorías. Vea tabla XVIII-1. Las regulaciones de transporte dependen de la categoría del mi-

croorganismo. Al respecto es importante señalar que una muestra clasificada para diagnóstico puede ser clasificada como ONU 3373 y embalada según las instrucciones de embalaje 650 del manual de la IATA, con las siguientes excepciones:

- Patógenos del grupo de riesgo 4.
- Agentes identificados y patógenos nuevos o emergentes.
- Cultivos o "stocks" en grandes concentraciones.

Estos tres casos mencionados deben seguir siendo clasificados bajo ONU 2814 ó 2900 y embalados de acuerdo con la instrucción del embalaje 602 de IATA¹.

Tabla XVIII-1

Clasificación de los grupos de riesgos de los microorganismos.

GRUPO DE RIESGO DEFINIDO	CARACTERÍSTICA	COMENTARIOS
Microorganismo infeccioso del grupo de riesgo 1	Agente poco probable que pueda causar enfermedades a los humanos o a los animales.	Las sustancias que contengan solamente estos microorganismos no se consideran materias infecciosas, de acuerdo con la reglamentación.
Microorganismo infeccioso del grupo de riesgo 2	Agente patógeno que puede causar enfermedades a los humanos y a los animales, pero que es poco probable que constituya un riesgo serio.	Aunque es capaz de causar infecciones serias cuando se está expuesto a él, hay disponibles medios preventivos y tratamientos efectivos, y el riesgo de que se propague la infección es limitado.
Microorganismo infeccioso del grupo de riesgo 3	Agente patógeno que causa generalmente enfermedades graves a los humanos y a los animales.	Ordinariamente, no se transmite de un individuo infectado a otro y se dispone de medios preventivos y tratamientos efectivos contra él.
Microorganismo infeccioso del grupo de riesgo 4	Agente patógeno que causa usualmente enfermedades graves a los humanos y a los animales.	Puede transmitirse con facilidad de un individuo a otro, ya sea en forma directa o indirecta, y para el que usualmente no hay disponibles medios preventivos o tratamientos efectivos.

En general, las muestras de diagnóstico, sean éstas infecciosas o no infecciosas, NO deben ser transportadas por personas ajenas al sistema sanitario y deben disponer de instrucciones escritas elaboradas por el laboratorio que envía las muestras.

SISTEMA DE EMBALAJE⁶

Este sistema simula una clásica "matruska", es decir, un envase dentro de otro y éste dentro de otro. Vea la figura XVIII-1. Los recipientes son los siguientes:

Recipiente primario, es el que contiene la muestra, debe envolverse en material absorbente a prueba de filtraciones y debe ir etiquetado.

Recipiente secundario, es el que protege al recipiente primario. Se pueden colocar varios recipientes primarios envueltos en un recipiente secundario. Utilice suficiente material absorbente para proteger

a todos los recipientes primarios y evitar choques entre ellos. Vea figura XVIII-2.

Recipiente externo de envío. El recipiente secundario se coloca en un paquete de envío, éste a su vez protege al recipiente secundario y su contenido de los elementos externos, tales como daño físico y agua, mientras se encuentra en tránsito.

Los objetivos de cumplir con las normas de embalaje y transporte son:

- 1. Mantener la integridad de la muestra diagnóstica.*
- 2. Conseguir que los resultados que se obtengan de las determinaciones realizadas en cada muestra biológica sean iguales o tan próximos como sea posible a su valor verdadero.*
- 3. Garantizar la seguridad del personal implicado en el transporte.*
- 4. Proteger al medio ambiente.*



Figura XVIII-1

A. Recolección de la muestra (ésta puede ser suero, efusión u otro material biológico), en este caso es un aislamiento bacteriano puro que ha crecido en agar sangre. B. Coloque en un medio de transporte apropiado, de plástico. C. Introduzca el recipiente primario en una funda plástica, la cual debe ser cerrada o sellada. Este a su vez se coloca en el recipiente de plástico con tapa rosca (recipiente secundario).

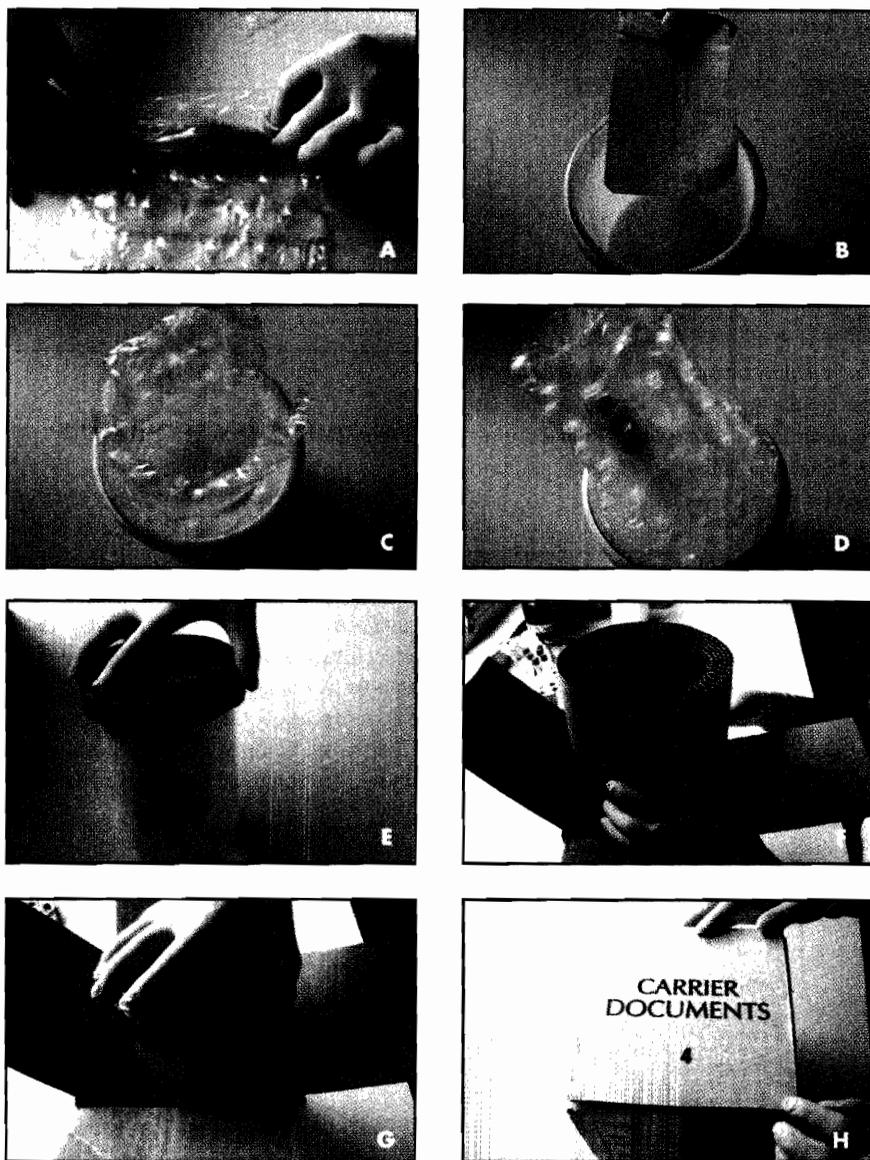
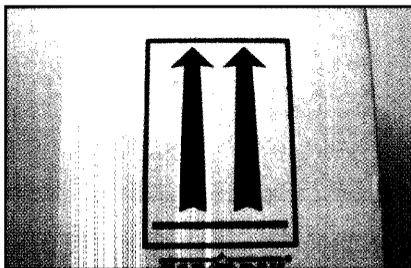


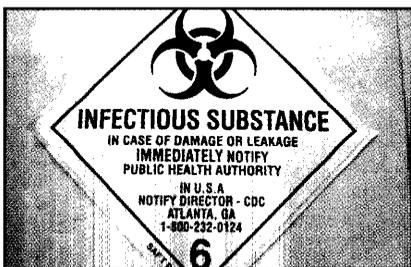
Figura XVIII-2

A. Envuelva el recipiente primario con plástico con burbujas de aire. B. Coloque un papel absorbente. C y D. Rellene el recipiente secundario con plástico con burbujas de aire o con espuma para que quede fijo el recipiente primario. E. Cierre herméticamente el recipiente tapa rosca. F y G. Colóquelo dentro de la caja de cartón de tal forma que quede fijo (Ayúdese con cartón corrugado). H. Adhiera las señales o rótulos avisando peligro biológico, dirección del recipiente y datos del remitente y del destinatario.

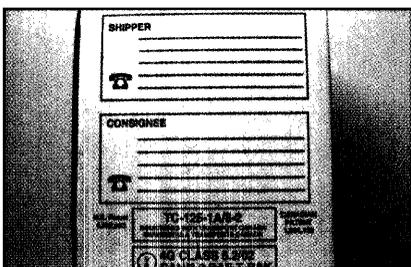
Las señales que deben ir en la caja son:



Flechas indicando la orientación correcta del recipiente primario. Es importante para evitar derramamiento de la muestra, es recomendado que el recipiente primario esté en posición vertical.

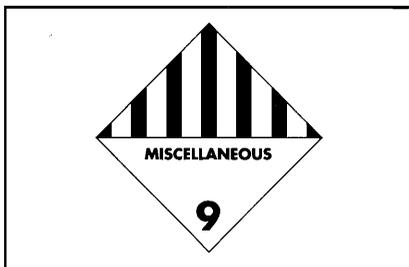


Adhesivo con la señal de producto biológico infeccioso.



Datos completos del remitente y del destinatario.

En caso de requerir hielo seco debe ir esta etiqueta:



EMPAQUETADO Y ETIQUETADO

Los formularios con datos, cartas y otras informaciones de identificación de la muestra deben colocarse pegados con cinta adhesiva en el exterior del recipiente secundario. Para el transporte de sustancias infecciosas se debe utilizar el sistema de embalaje básico con requerimientos específicos de etiquetado y documentación. Cuando el transporte ocurre para otros países, el idioma de las etiquetas es el inglés.

Los documentos requeridos para el envío podrán ser obtenidos en las compañías transportadoras, que deben colocar en el paquete:

- Una declaración de artículos peligrosos
- Una lista de envío/proforma que incluya la localización del receptor, el número de paquetes, detalle de contenido, peso, valor (Observación: indicar que es "sin valor comercial", cuando el valor de los mismos sea despreciable).
- La guía aérea, si el envío se hace por esta vía.
- El permiso de importación/exportación y/o la declaración si esto fuera requerido.

- Si el paquete externo del envío contiene recipientes que excedan la cantidad de 50 ml, deben colocarse por lo menos dos "etiquetas de orientación" (flechas) en lados opuestos del paquete, indicando la orientación correcta del mismo.

El transporte de material biológico o sustancia infecciosa requiere una buena colaboración entre el remitente, la compañía de transporte y el destinatario, y cada uno debe asumir sus responsabilidades para garantizar que el producto llegue a su destino oportunamente y en buenas condiciones. Este transporte puede ser nacional e internacional. El envío será transportado por el medio más adecuado y la ruta más directa, procurando que su llegada sea en un día hábil de la semana, evitándose los fines de semana y feriados en el país de destino. Puede llevarse a cabo por:

1. Vía terrestre
2. Vía aérea

La falta en el cumplimiento en todos los aspectos de la reglamentación para transporte de sustancias peligrosas es una infracción de las leyes en vigencia y estará sujeto a las penas legales.

Transporte nacional y local por superficie

Embarcar e identificar la sustancia infecciosa o muestra biológica siguiendo las normas de bioseguridad establecidas en las "Recomendaciones del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el Transporte de Artículos Peligrosos"⁴. Siga las instrucciones mencionadas en la Figura XVIII-1 y XVIII-2.

1. Cada caja de transporte deberá estar etiquetada de forma adecuada y de acuerdo a su contenido.
2. Los formularios con los datos de identificación de los especímenes deben acompañar a cada caja de transporte.
3. Los recipientes de las muestras deben ser herméticos y a prueba de fugas de líquidos.
4. Si el recipiente es un tubo, debe estar cerrado herméticamente, con tapa de rosca y colocado en una gradilla, de tal forma que mantenga su posición vertical.
5. Los recipientes con muestras y gradillas deben colocarse en una caja resistente de metal o plástico y a prueba de fugas de líquido, que contenga una cubierta segura y que cierre perfectamente. La caja donde se transportan los materiales deberá ser asegurada firmemente en el vehículo de transporte.
6. No transportar el material infeccioso o muestras biológicas para análisis de laboratorio en el mismo compartimento en que son transportados los pasajeros.
7. El vehículo de transporte deberá ir provisto de material absorbente, desinfectantes, un contenedor para desechos a prueba de fugas líquidas y guantes resistentes de uso múltiple.
8. Mantener el material a la temperatura externa recomendada desde que se recibe del remitente hasta la entrega al destinatario en el país de destino.

Transporte internacional aéreo

Las regulaciones internacionales para el transporte de material infeccioso por vía aérea están basadas en las Recomen-

ciones ya mencionadas del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el Transporte de Artículos Peligrosos, de la Unión Postal Universal (UPU), la Organización Internacional de Aviación (OIAIC), la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA), y por la OMS.

En los vuelos internacionales está estrictamente prohibido que los pasajeros transporten sustancias infecciosas con ellos o en su equipaje de mano. Igualmente, está prohibida la utilización del correo diplomático para el transporte de este tipo de

material. Se debe transportar exclusivamente con respaldo de la Guía Aérea (MAWB-Master Airbill) emitida por la compañía aérea transportadora⁷ o con respaldo de documento de conocimiento de carga del Transporte Fluvial, Marítimo⁸, Ferroviario o Terrestre Internacional⁹, independientemente de si es infeccioso o no.

En caso de transporte combinado tierra-aire se deben atender prioritariamente los requisitos establecidos para el transporte aéreo.

BIBLIOGRAFÍA

1. DANGEROUS GOODS REGULATIONS. 40 th Edition - 1 January 1999. International Air Transport Association (I.A.T.A.) Section 5 - Packing - Instruction N° 602 y N° 650
2. Instrucciones técnicas para la seguridad en el transporte aéreo de mercancías peligrosas de la Organización Internacional de Aviación Civil (ICAO). Montreal: Asociación Internacional de Transporte Aéreo: IATA-DGR, 2002
3. World Health Organisation. Guidelines for the safe transport of Infectious Substances and Diagnostic Specimens. WHO/EMC/97.3 Ginebra: WHO, 1997.
4. United Nations Committee of Experts on the Transport of Dangerous Goods (UN ECO-SOC). Recommendations on the Transport of Dangerous Goods. Nueva York: UN, 1997.
5. Asociación Española de Normalización y Certificación. Sistemas de diagnóstico in vitro. Envases para el transporte de muestras médicas y biológicas. Requisitos, ensayos. UNE-EN 829. Madrid: AENOR, 1996.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedimiento para la manipulación y el transporte de especímenes diagnósticos y agentes etiológicos; Guía aprobada. NCCLS Documento H5-A3, 1994; 3ª ed.
7. The Universal Postal Union (UPU). Manual of the Universal Postal Convention. Lays down detailed regulations for the transport of biological substances by post/mail. 1995.
8. Código internacional de transporte marítimo de mercancías peligrosas IMDG. International Maritime Organization (IMO). Londres, 1995.
9. Reglamento de transporte internacional por ferrocarril de mercancías peligrosas RID. Contrato de transporte internacional por ferrocarril de las mercancías CIM o COTIF, 1997. Febrero de 2003.

A

- Absceso, 12
 - cerebral, 123
 - epidural, 125
- Acanthamoeba*, 180
- Acinetobacter*, 52, 112
- Actinomyces*, 102, 197, 225
- Adenovirus, 20, 21, 146
- Aeromonas*, 89, 94
- Agar sangre, 27, 36
 - cerebro-corazón, 171
 - McConkey, 36
- Agglutinación, 11, 28, 155, 256
- Amigdalitis, 20
- Anaerobios, 23
- Anestesia equipo, 35
- Angina Vincent, 23
- Anopheles*, 180
- Asociación Internacional de Transporte Aéreo, 266
- Anticuerpos heterófilos, 30
 - monoclonales, 256
 - reagínicos, 154
- Antígenos bacterianos, 126
 - en LCR, 255
 - en micosis, 177
 - urinarios, 71, 261
- Astrovirus, 83
- Arcanobacterium*, 20, 23
- Articulación, 188
- Artritis séptica, 188
- Ascaris lumbricoides*, 80
- Aspergillus*, 58, 100, 223, 244
- Aspergilosis, 256
- Aspiración duodenal, 90
 - suprapúbica, 136
 - traqueal, 14, 58
 - procesamiento, 59
 - sensibilidad, 63
 - bubones, 158
- Autoclave, 13

B

- Bacillus*, 249
 - anthrax, 103
 - cereus, 82
- Bacilos Döderlein, 11
- Bacteriemia, 240
 - asociada catéter, 205
 - continua, 240

- intermitente, 240
- Bacteriuria, 130
- Bacteroides*, 23, 191
 - fragilis, 68, 109, 198
- BAL. Ver Lavado broncoalveolar
- Balantidium coli*, 85
- Bartonella*, 247
- Biopsia, 101
 - antro gástrico, 78, 91
 - médula ósea, 105
 - por sigmoidoscopia, 78
 - pulmonar, 52, 66
 - rectal, 90
- Blanco calco-fluor, 58, 168, 190
- Blasocystis*, 89
- Blefaritis, 224
- Bordetella*, 42
- Borrelia, 119, 257
- Bronquiolitis, 42
- Bronquitis aguda, 42
 - crónica, 46
- Brucella*, 104, 247
- Bursitis séptica, 193

C

- Cabina seguridad, 100
- Campo oscuro, 154
- Campylobacter*, 83, 247
- Canaliculitis, 225
- Candida*, 20, 132, 167
- Candidiasis vaginal, 146
- Capnocytophaga*, 197
- Carbunco, 232
- Catéter intravascular, 202
 - cultivo cuantitativo, 207
 - hemodilísis, 212
- Células clave, 160
- Celulitis, 234
- Cepillado bronquial, 52, 62
 - protegido, 62
 - ventajas, 63
- Chancro blando, 155
 - sífilítico, 153
- Chlamydia, 11, 42, 69
 - pneumoniae, 23
 - psittaci, 45
 - trachomatis, 45, 150
 - pruebas rápidas, 152
- Cinta adhesiva, 78
- Cisticercosis, 185

- Cistitis, 131
- Citomegalovirus, 20
- Coccidioides*, 12
- Coliformes, 87
- Contenido duodenal, 78
- Contraste fase, 57
- Control de calidad, 17
- Coronavirus, 83
- Coqueluche, 42
- Coxsackie, 21, 146
- Clostridium*, 196
 - difficile, 81
 - perfringens, 237, 249
- Coliformes, 87
- Conjuntivitis, 216
 - agentes etiológicos, 217
- Coprocultivo, 81
- Corynebacterium*, 112, 249
 - diphtheriae, 20, 23
 - haemolyticum, 24
 - minutissimum, 235
- Cyclospora*, 81
- Crioaglutininas, 70
- Cryptococcus neoformans*, 119, 255
- Cryptosporidium*, 81, 94
- Cuerpo elemental, 217

D

- Dacriocistitis, 225
- Dermatófitos, 167,
- Detección antígeno, 255
- Diarrea, 81
 - crónica, 94
 - características, 95
 - postantibiótica, 81
 - viajero, 87
- Diarreas inflamatorias, 85
 - secretoras, 84
- Difteria, 23
- Disenteria amebiana, 85
 - bacilar, 84, 85
- Duelas, 91

E

- Echinococcus granulosus*, 180
- Echovirus, 21
- Ectima, 231
- ELISA, 70
- Embalaje, 268



E
 Empiema, 64
 - subdural, 124
 Encefalitis, 123
 Endocarditis, 244
 Endoftalmítis, 222
 Enfermedad de Chagas, 183
 - inflamatoria pélvica, 161
 Empaquetado, 270
Entamoeba histolytica, 84
Enterocytozoon, 81
Enterobacter, 52
Enterobius vermicularis, 80, 89,
 Enterovirus, 21, 119
 Epiglotitis aguda, 26
 EPOC, 46
 Erisipela, 235
 Eritrasma, 235
 Escarlatina, 24
Escherichia coli, 87, 88, 130
 Espudo, 13, 45, 52
 - inducido, 54
 - procesamiento, 54
 - toma muestra, 46
 - valoración del, 54
 Estéril, 13

Etiquetada, 270
 Examen en fresco, 57
 Exudado, 65

F
 Faringitis, 20
 Faringoamigdalitis, 20
 Fase aguda, 10, 30, 45
Fasciola hepática, 91
 Fascitis necrotizante, 196
 Fiebre origen desconocido, 243
 - Q, 72
 - reumática, 2
 Fijación del complemento, 45, 256
 Foliculitis, 231
 Forúnculo, 232
Francisella, 20, 25
 Frotis sanguíneo, 181
 FTAbbs, 155
 Fungemia, 240
Fusobacterium, 20, 23, 25

G
Gardnerella vaginalis, 139, 145
Giardia lamblia, 94
 Glomerulonefritis aguda, 20
 Gonorrea, 148

Gota fresca, 137
 Gota gruesa, 181
 Granuloma inguinal, 157

H

HACEK, 247
Haemophilus influenzae, 26, 36, 46
 - *ducreyi*, 155
 Hantavirus, 48
 Heces, 78
 - preservativo, 80
 - procesamiento, 86
 - purgante, 89
 - transporte cultivo, 86
Helicobacter pylori, 91,
 - pruebas detección, 93
 Helmintos, 180
 - tisulares, 184, 185
 Hemaglutinación, 30
 Hemocultivos, 240
 - cuantitativo, 209
 - en neumonía, 67
 - fungemia, 173
 - procesamiento, 246
 - tiempo diferencial, 211
 - sistemas automatizados, 245
 - sistemas manuales, 244

Hepatitis, 258
 Herida, 12
 - quirúrgica, 12

Herpangina, 21
 Herpes genital, 156
 - zoster,

Hibridación, 44
 Hielo seco, 270
 Hisopado anal, 78, 85
 - nasal, 9
 - orificio fistula, 9

Histoplasma, 119, 172
 Hongos, 13, 166
 - filamentosos, 166
 - levaduras, 166

I

IgA, 184, 254
 IgG, 184, 254
 IgM, 184, 254
 Impétigo, 230
 Infección hospitalaria, 17
 - nosocomial, 43
 - tracto urinario, 130
 - pelvis femenina, 161

 - tracto genital masculino, 162
 Infecciones adquiridas en la comunidad,
 - asociadas úlcera decúbito, 237,
 - herida quirúrgica, 12
 - pie diabético, 235
 - sistémicas con manifestaciones
 démicas, 237

Infección de tracto urinario, 131
 - toma de muestra, 134
 - cateterismo, 135

Inmunidad humoral, 255
 - celular, 255

Inmunocomprometido individuo, 22, 86

Inmunoenzimática, 257

Inmunofluorescencia, 44, 257

Investigación, 17

ITU. Ver Infección de tracto urinario

J

Jabón, 110, 134

K

Klebsiella, 48, 52
 KOH, 58, 176

L

Lactobacillus, 144
 Lámina inmersa, 131
 Látex, 255
 Lavado broncoalveolar, 52, 61
 - bronquial, 52, 61
 - peritoneal diagnóstico, 109
 - quirúrgico, 109

LCR. Ver Líquido cefalorraquídeo

Legionella, 49, 68, 247

Leishmania donovani, 182,

Leishmaniasis, 182

Leptospira, 11, 139, 247

Leucocitos polimorfonucleares, 84

Levaduras, 144

Linfogramuloma venéreo, 153, 157

Líquido amniótico, 14, 112

 - articular, 14
 - cefalorraquídeo, 10, 14, 118, 261
 - toma muestra, 120
 - transporte, 122
 - pleural, 64
 - pericárdico, 14, 113
 - peritoneal, 108
 - dialísis, 111
 - sinovial, 189

Lisis centrifugación, 244

Listeria monocytogenes, 121

M

Malaria, 180

- toma de muestra, 181

Malassezia furfur, 167, 232

Manual normas, 12

Mastoiditis, 39

Medios cultivo agar sangre-ampicilina, 86

- BCYE, 68

- Bordet-Gengou, 44

- *Campylobacter* agar, 86

- CIN agar, 86

- Chocolate, 190

- CLED, 130

- EMB, 138

- Haektoen agar, 86

- Jones-Kendrick, 44

- Regan-Lowe, 43

- Selenito, 85

- Sorbitol-McConkey, 86

- SS, 86

- Thayer Martin, 149

- TCBS, 86

Medios transporte Amies, 158

- Cary Blair, 79, 81

- Leibovitz-Emory, 158

- SPS, 43

- Stuart, 158

- Transgow, 149

Médula ósea, 104

Meningitis, 243

Método tira adhesiva, 89

- cuerda, 91

MHA-TP, 155

Microbiología laboratorio, 15

Microbiólogo función, 15

- asistencial, 16

- control infecciones hospitalarias, 17

- enseñanza, 17

Micción, 133

- espontánea, 134

Micobacterias, 13, 248

Micosis, 166

- oportunistas, 175

- profundas, 171

- pruebas piel, 177

- subcutáneas, 168

- superficiales, 167

Microsporium, 167

Microsporidium, 180

Molluscum contagiosum, 146

Mordedura, 12

Mononucleosis infecciosa, 23

Monospot, 30

Moraxella catarrhalis, 36, 46

Mucorales, 175

Mycobacterium tuberculosis, 12, 24, 49,

119, 197, 224

- *leprae*, 244

- *smegmatis*, 144

Mycoplasma, 24, 69

- *pneumoniae*, 42, 47

N

Naegleria, 180

Nasofaringeo aspirado, 44

- lavado, 44

Neisseria gonorrhoeae, 20, 23, 146, 148, 189

- *meningitidis*, 146, 255, 261

Neumonía, 48

- aspiración, 50

- atípica, 50

Nocardia, 49, 72, 193

Neumonía adquirida comunidad, 50,

- adulto mayor, 50

- eosinofílica, 50

- nosocomial, 50, 51

- severa, 50

- sida, 50

Número Kass, 130

O

Oncocercosis, 185

Onicomycosis, 168

Organización Internacional de Aviación, 266

Orina, 10, 13

- toma de muestra, 134

- transporte, 136

Osteomielitis, 197

Otitis, 35

- externa, 38

- maligna, 38

- media, 35

Oxiiuros, 89

P

Panofthalmitis, 222

Paracentesis, 110

Paragonimus, 57, 180

Parvovirus B19, 254

Parvovirus, 11,

Pasteurella, 72, 197

PCR, 44, 70, 119, 184, 191, 255

Pericardioplastia percutánea, 114,

Peritonitis, 108

Picornaviridae, 21

Pielonefritis, 131

Piomiositis, 194

Piuria estéril, 140

Plasmodium, 180,

- *falciparum*, 181

- *malariae*, 180

- *ovale*, 180

- *vivax*, 181

Pneumocystis, 49, 54, 62, 172

Polimorfonucleares heces, 84

Proglótides, 80

Prototheca, 193

Prueba aminas, 160

- Griess, 138

- Paul Bunnell, 30

- Tzanck, 157

Pruebas rápidas, 29, 49

- Influenza 73

- *S. pyogenes*, 30

Pruebas serológicas, 30

- micosis, 177

Pseudomonas, 36, 46, 52

Punción medular, 104

- pulmonar, 52

- suprapúbica, 135

Pus, 12

Q

Queratitis, 219

R

Radioinmunoensayo, 44

Radioinmunoanálisis, 256

Reacción cadena polimerasa, 44

Recipiente primario, 268

- secundario, 268

Reporte, 15

Resistencia bacteriana, 49

Retinitis, 224

Rhinovirus, 21

Rickettsia, 154

Rosa Bengala, 259

Rotavirus, 83

RPR, 155

S

Salmonella, 119

- *enteritidis*, 81

- *typhi*, 81, 104
 Salpingitis, 150
Sarcoptes scabiei, 146,
 Selenito caldo, 86
Shigella, 81, 144
 SIDA, 69, 86, 162, 166, 182, 184, 224
 Sifilis, 153
 - test serológico, 154
 Sílice gel, 26
 Sinusitis, 32
 Sonda Foley, 13, 135
 Sonicación, 208
 Sondaje vesical, 132, 135
Staphylococcus aureus, 26, 36, 194,
 - coagulasa negativa, 193, 249
 - *epidermidis*, 111, 125, 126, 223
 - *saprophyticus*, 131
Streptococcus agalactiae, 49, 198, 230, 261
 - grupo C, 21, 28, 230, 235
 - grupo G, 21, 28, 230, 235
 - *pneumoniae*, 36, 46, 119, 261
 - *pyogenes*, 20, 194, 234, 255
 - aislamiento, 27
 - pruebas rápidas, 27
 - aglutinación, 28
 - *viridans*, 248
Strongyloides, 94

T

Taenia, 80, 119
 - *solium*, 180, 185
 Tapones algodón, 13
 Tejidos postmortem, 103
 Tetraciónato caldo, 86
 Timpanocentesis, 35
 Tinción ácido resistente, 57, 191
 - modificada, 94
 - azul de metileno, 84
 - Giemsa, 56, 84, 157
 - Gram, 28, 55, 156
 Tinta china, 119
 Tiña, 167, 235
 - versicolor, 169
 Titulación, 255
 Tioglicolato caldo, 36
 Tos ferina, 42
Toxoplasma gondii, 119, 180, 184, 254
 TPI, 155
 Transporte artículos peligrosos, 266
 - internacional aéreo, 271
 - muestras biológicas, 266,
 - nacional y local superficie, 271

Trasudado, 65
 Tracoma, 217
 Trampa Lukens, 43
 Trematodos,
Trichinella spiralis, 100, 180, 184
Trichomonas vaginalis, 146, 150, 160, 180
 Tricomoniasis, 186
 Triquinosis, 184
 Trofozoitos, 80
Trypanosoma, 183
 Tuberculosis, 48, 56, 71

U

UFC. Ver Unidades formadoras de colonias
 Úlcera, 153
 - córnea, 219
 - crónica, 235
 - decúbito, 237
 - externa, 9
 - pie diabético, 235
 Unidades formadoras de colonias, 130
 Unión Postal Universal, 266
Ureaplasma, 161
 Uretritis gonocócica, 148
 Urocultivo, 138
 Uveítis, 224

V

Vacunación, 26, 42
 Vaginal secreción niña, 145
 - mujer adulta, 159
 Vaginosis bacteriana, 159
 Válvulas derivación, 125
 Varicella zoster, 22
 VDRL, 11, 155
Vibrio cholerae, 82
 - *parahemolyticus*, 81, 83
 VIH, 241, 248, 258
 Virus Citomegalovirus, 20, 23
 - Epstein-Barr, 20, 23
 - Hepatitis, 12
 - Herpes simple, 20, 22, 156
 - Influenza, 20, 71
 - Papiloma humano, 147
 - Parainfluenza, 42
 - Sincitial respiratorio, 42
 Vulvovaginitis, 144

W

Western blot, 119, 159

Wood lámpara, 167, 235

Y

Yersinia enterocolitica, 20, 94
 - *pestis*, 103

Z

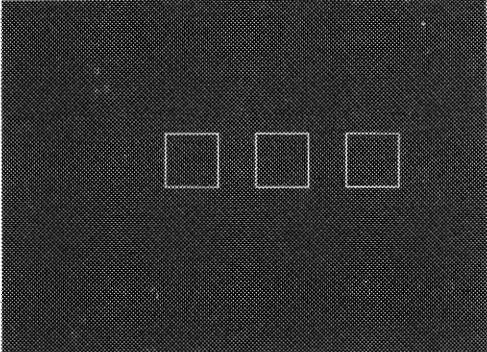
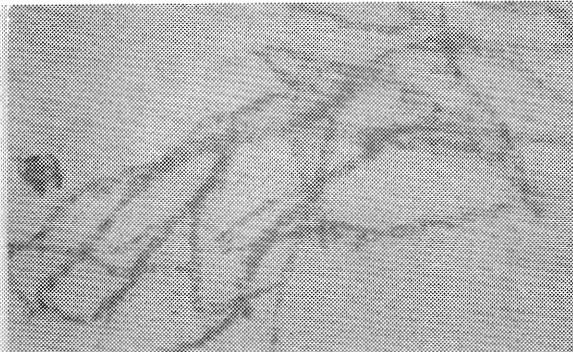
Ziel Neelsen. Ver Tinción ácido resistente

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - Ecuador

Av. Amazonas 2889 y La Granja
Edificio de las Naciones Unidas, Piso 9
Tel.: (593 2) 246 0330
Fax: (593 2) 246 0325
www.opsecuador.org

BIBLIOTECA VIRTUAL EN SALUD

www.opsecuador.org/bvs-ecuador



**RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE
DE MUESTRAS EN
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

QUITO, JUNIO 2004