

TOMA DE MUESTRAS EN MICROBIOLOGÍA

JUAN CARLOS RODRÍGUEZ
S. MICROBIOLOGÍA



CONCEPTOS GENERALES



- Toda la información depende de la calidad de la muestra recibida
- Es clave la comunicación con Microbiología: hay que aclarar las dudas **ANTES DE REALIZAR EL PROCEDIMIENTO**



TOMA DE MUESTRAS GENERALIDADES

- Usar siempre RECIPIENTES ESTÉRILES recién abiertos
- **NO AÑADIR FORMOL** ni otros compuestos desinfectantes
- NO ENVIAR GASAS
- Tomar mayor cantidad de muestra posible
- Utilizar los medios de transporte adecuados a cada estudio
- LLEVAR LO MÁS RÁPIDAMENTE POSIBLE a Microbiología



HORARIOS DE MICROBIOLOGÍA



- **El horario de recogida de muestras del laboratorio de Microbiología es:**
 - De lunes a viernes: 8-21 h
 - Sábados, domingos y festivos : 8-14 h.
 - En otros horarios: Dejar en el Laboratorio de Urgencias

- **Teléfonos de contacto:**
 - Recepción de muestras: 913876
 - Busca residentes: 445435
 - Teléfono Jefe de Sección: 445042

CONSERVACIÓN



TODA MUESTRA QUE SE OBTENGA DE UN LUGAR HABITUALMENTE ESTÉRIL DEBE MANTENERSE A TEMPERATURA AMBIENTE

TODA MUESTRA QUE PUEDA ESTAR CONTAMINADA CON BACTERIAS DEL MICROBIOMA DEBE CONSERVARSE EN NEVERA

- Orinas
- Vaginales
- Heces
- Respiratorio
- Orofaringeo
- Piel

HECES



- **Estudio de detección de antígenos** (Giardia, Cryptosporidium, Entamoeba):
Se enviará **un frasco estéril sin conservante**

Frasco estéril 100-150 ml
con rosca

Solicitar almacén

Código LOGIS:

912107



CLOSTRIDIUM DIFFICILE



- No se diagnostica mediante coprocultivo
- Solicitar detección de antígeno (GDH)
 - Si negativo: Se descarta la infección
 - Si positivo:
 - Toxina negativa: Cepas poco virulentas
 - Toxina positiva: Cepas virulentas
 - Toxina binaria: Genotipo especialmente virulento



- **Estudio parasitológico mediante microscopia sin helmintos:** Debe constar de **tres muestras recogidas en PARASEP en días sucesivos**, ya que la eliminación de parásitos puede ser intermitente. Los recipientes deben tener conservante

Frasco de recogida de heces para parásitos

Solicitar almacén

Código LOGIS:

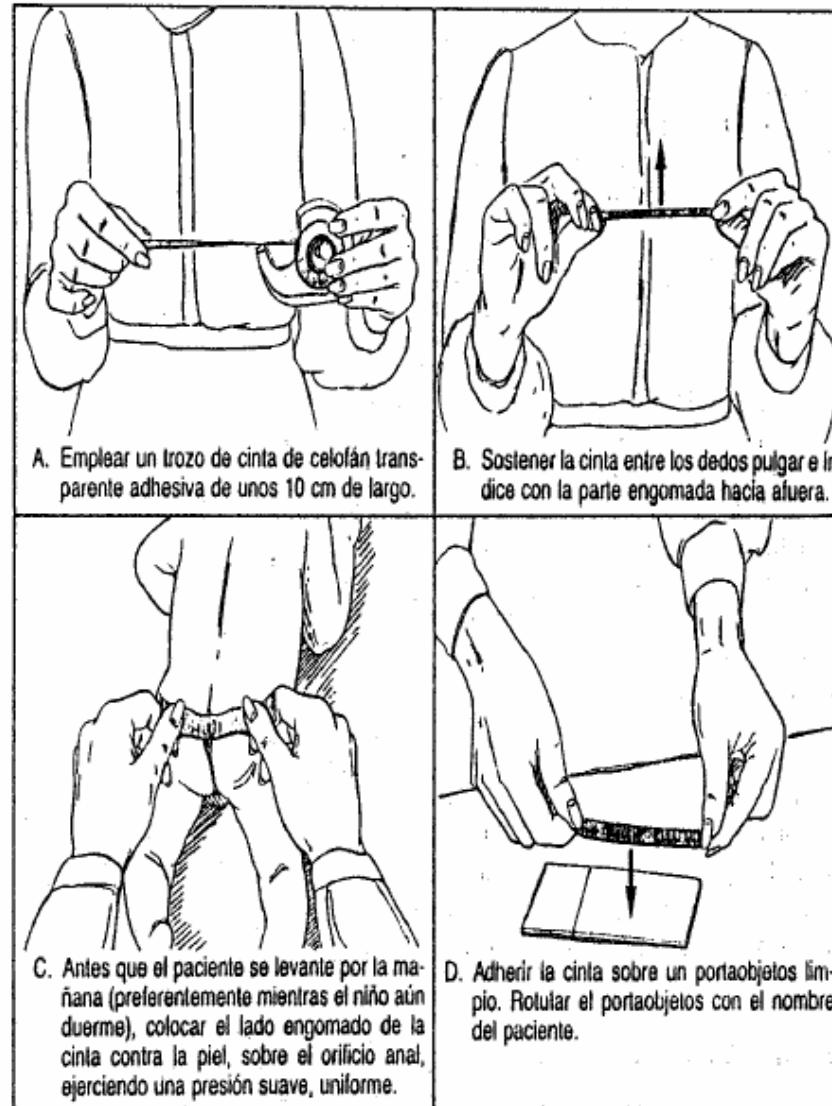
Frasco recogida muestras PARASEP

911620



- **Estudio parasitológico con microscopia y estudio de helmintos:** Debe constar de tres muestras en recipientes estériles sin conservante recogidas en días sucesivos y tres muestras recogidas en PARASEP (**cada día se recogerán dos muestras, una en recipientes estéril y otra en PARASEP**), ya que la eliminación de parásitos puede ser intermitente. Deben reenviarse ambos recipientes e indicarse expresamente en el volante

Figura 1: Técnica de Graham



HEMOCULTIVOS



- Desinfectar la piel antes de pinchar
- No extraer los hemocultivos a través de catéter porque hay más riesgo de contaminación
- Un hemocultivo contaminado evita el crecimiento del verdadero patógeno
- Llevar inmediatamente a Microbiología. Si no fuera posible, mantener a temperatura ambiente

HEMOCULTIVOS



Table I-1a. Recommended Volumes of Blood for Culture in Pediatric Patients (Blood Culture Set May Use Only 1 Bottle)

Weight of Patient (kg)	Total Patient Blood Volume (mL)	Recommended Volume of Blood for Culture (mL)		Total Volume for Culture (mL)	% of Total Blood Volume
		Culture Set No. 1	Culture Set No. 2		
≤1	50–99	2	...	2	4
1.1–2	100–200	2	2	4	4
2.1–12.7	>200	4	2	6	3
12.8–36.3	>800	10	10	20	2.5
>36.3	>2200	20–30	20–30	40–60	1.8–2.7

When 10 mL of blood or less is collected, it should be inoculated into a single aerobic blood culture bottle.

HEMOCULTIVOS

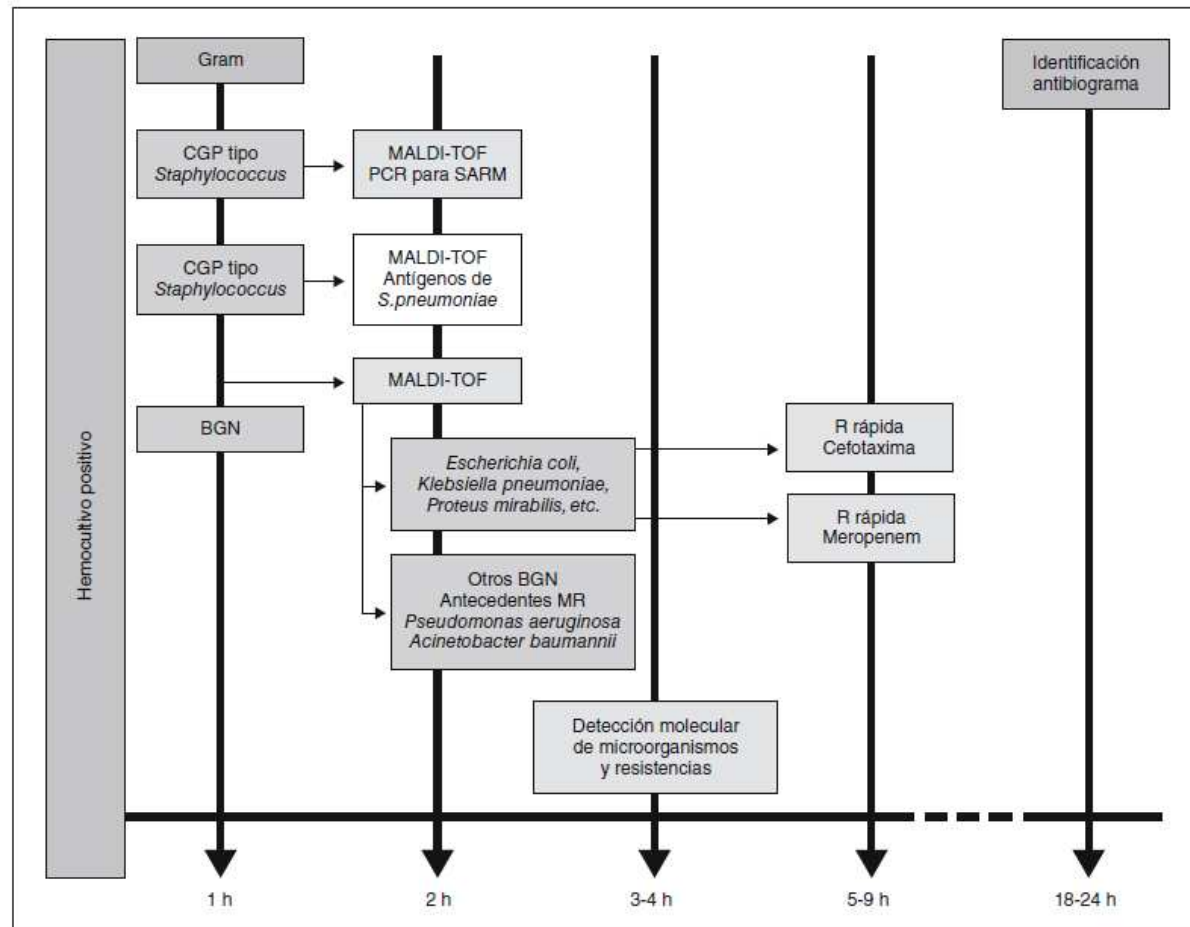


Figura 1. Integración de MALDI-TOF y otras técnicas microbiológicas. BGN: bacilos gramnegativos; CGP: cocos grampositivos; MALDI-TOF: *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*; R: resistencia; SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

DIAGNÓSTICO BACTERIEMIA ASOCIADA A CATETER

✓ Extracción de de
sangre a través de
cada una de las
conexiones del catéter
y de una vena

✓ Los frascos deben
transportarse al
laboratorio
inmediatamente

Muy importante: transporte inmediato al laboratorio

HEMOCULTIVO EN PORTADOR DE CATÉTER

Sección de Microbiología y Parasitología

ETIQUETA PACIENTE

ESPACIO PARA
MICROBIOLOGÍA

Dir. Ora		SERVICIO
FECHA DE LA TOMA	HORA DE LA TOMA	ANTIBIÓTICOS SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>

1.-VIA PERIFÉRICA (x 1) :

Aerobio

Anaerobio

OBSERVACIONES

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

2.-VIA CENTRAL (x 3) :

Aerobio

Anaerobio

Luz/localización

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

TIPO DE CATÉTER CENTRAL (Marcar tipo de catéter y nº luces del catéter):

	Nº LUCES
CVC <input type="checkbox"/>	1 2 3 4
C. ARTERIAL <input type="checkbox"/>	1 2 3 4
HICKMAN <input type="checkbox"/>	1 2
PORT-A-CATH <input type="checkbox"/>	1
C.HEMODIÁLISIS <input type="checkbox"/>	1 2 3

HEMOCULTIVO VIA PERIFERICA

ANALISIS: HEMOCULTIVO VIA CENTRAL 1

RESULTADO DEFINITIVO:

NUMERO DE HORAS a las que se POSITIVIZA el hemocultivo: 12

ANTIBIOGRAMA/S MICROORGANISMO/S AISLADO/S:

(Segun criterios actualizados del CLSI)

(1) *Staphylococcus hominis*

El TIEMPO de CRECIMIENTO en la toma por CATETER con respecto a la toma por via PERIFERICA es SUPERIOR a 120 minutos.

Compatible con bacteriemia asociada a cateter.



**Bacteriemia
asociada a
cateter**

HEMOCULTIVO VIA PERIFERICA

**Bacteriemia
no asociada
a cateter**



ANALISIS: HEMOCULTIVO VIA CENTRAL 1

RESULTADO DEFINITIVO:

NUMERO DE HORAS a las que se POSITIVIZA el hemocultivo: 12

ANTIBIOGRAMA/S MICROORGANISMO/S AISLADO/S:

(Segun criterios actualizados del CLSI)

(1) *Staphylococcus hominis*

El TIEMPO de CRECIMIENTO en la toma por CATETER con respecto a la toma por via PERIFERICA es INFERIOR a 120 minutos.

Probablemente no se trate de bacteriemia asociada a cateter

LÍQUIDOS ESTÉRILES más de 2 ml)



- L. Pleural
- L. peritoneal/ascítico
- L. Articular/sinovial
- L. Pericárdico

Frascos de hemocultivos para microorganismos aerobios y anaerobios
Solicitar almacen
Código LOGIS:
Aerobio (tapón gris)
974435.007
Anaerobio (tapón naranja)
974004.015



Tubo plástico estéril 10cc
Solicitar almacen
Código LOGIS:
912317



LÍQUIDOS ESTÉRILES: menos de 2 ml



- L. Pleural
- L. peritoneal/ascítico
- L. Articular/sinovial
- L. Pericárdico

Transporte anaerobios
en muestras líquidas

Solicitar almacén

Código LOGIS:

Port-A-Germ

974004.077



BIOPSIAS



NO AÑADIR NUNCA FORMOL NI OTRO DESINFECTANTE

NO ENVIAR GASAS

CUBRIR CON SUERO SALINO ESTÉRIL

Frasco estéril 100-150 ml
con rosca

Solicitar almacén

Código LOGIS:

912107



HERIDAS SUPERFICIALES



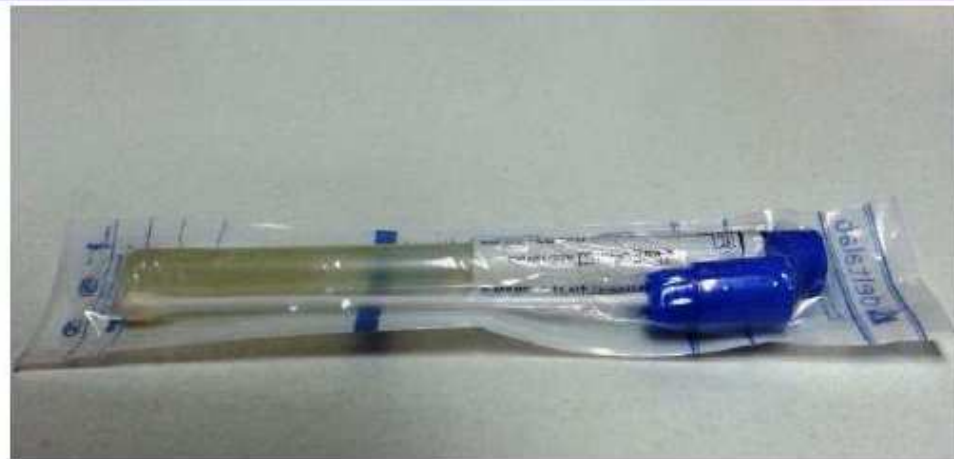
PUNCIÓN MEJOR QUE TORUNDA
NO TOCAR LA PIEL DE ALREDEDOR

Torunda con medio de transporte

Solicitar almacén

Código LOGIS:

Escobillon con medio
Amies 912385



HERIDAS PROFUNDAS, ABSCESOS, ETC

SIEMPRE CON JERINGA

SI HAY MUCHA CANTIDAD: HEMOCULTIVO

Transporte anaerobios
en muestras líquidas

Solicitar almacén

Código LOGIS:

Port-A-Germ

974004.077



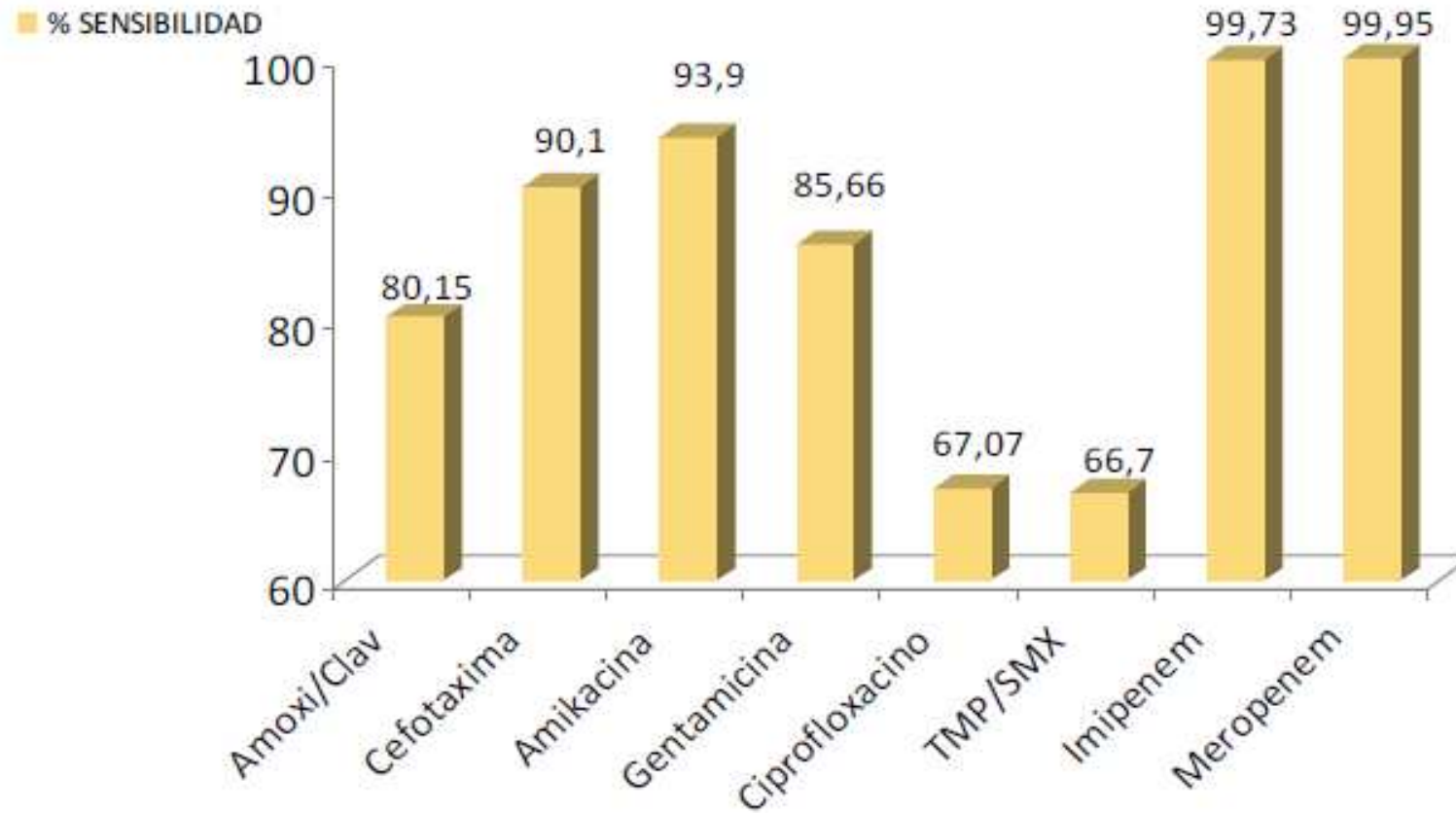
RESISTENCIAS EN NUESTRO MEDIO

JUAN CARLOS RODRÍGUEZ
S. MICROBIOLOGÍA



Escherichia coli

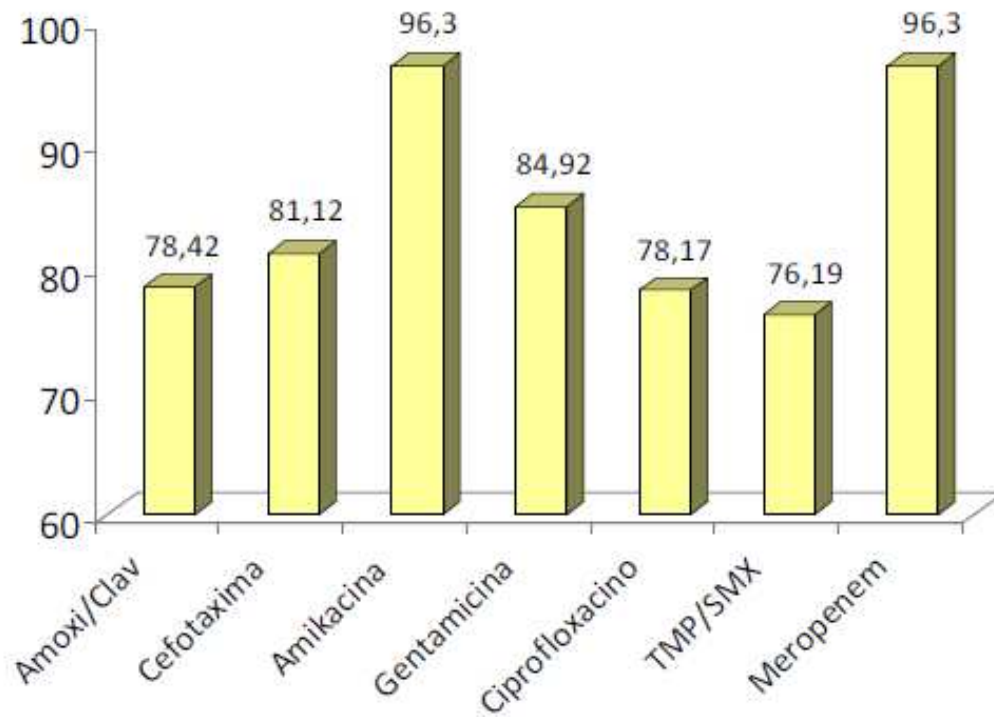
(n= 2507 aislados; 1895 pacientes)



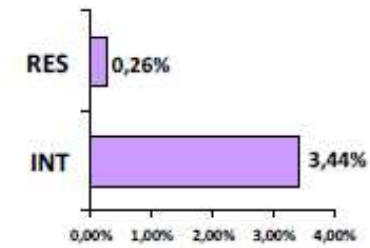
Klebsiella spp

(n= 1089 aislados; 745 pacientes)

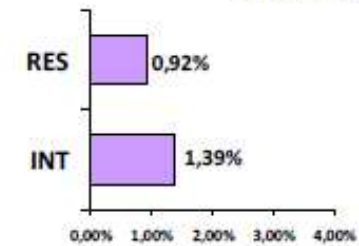
% SENSIBILIDAD



AMIKACINA



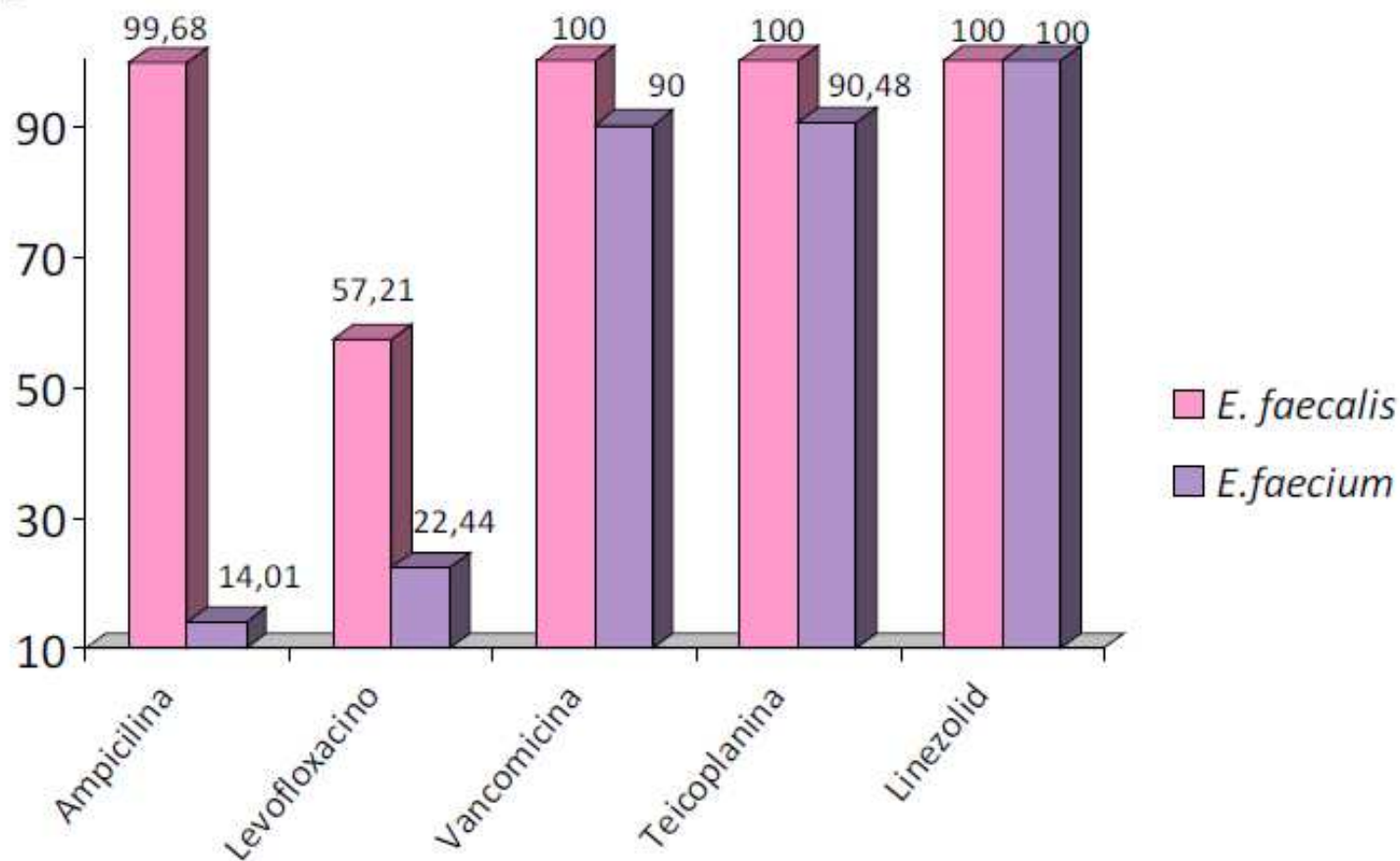
TIGECICLINA



E.faecalis y *E.faecium*

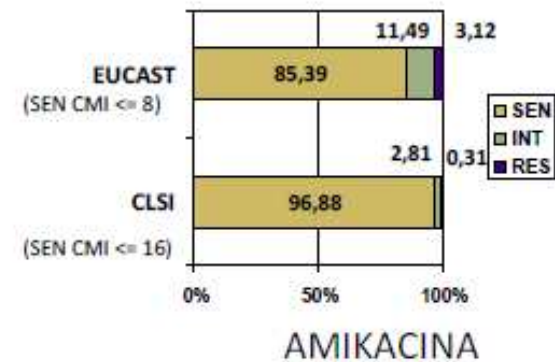
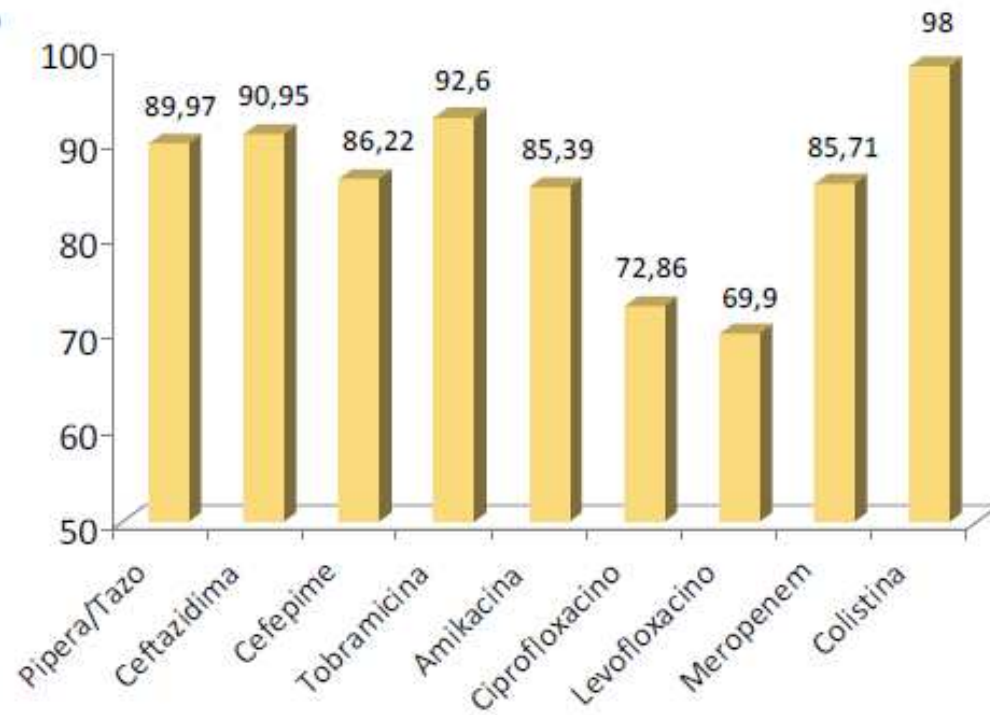
(n= 850 aislados; 636 pacientes / n= 237 aislados; 176 pacientes)

% SENSIBILIDAD



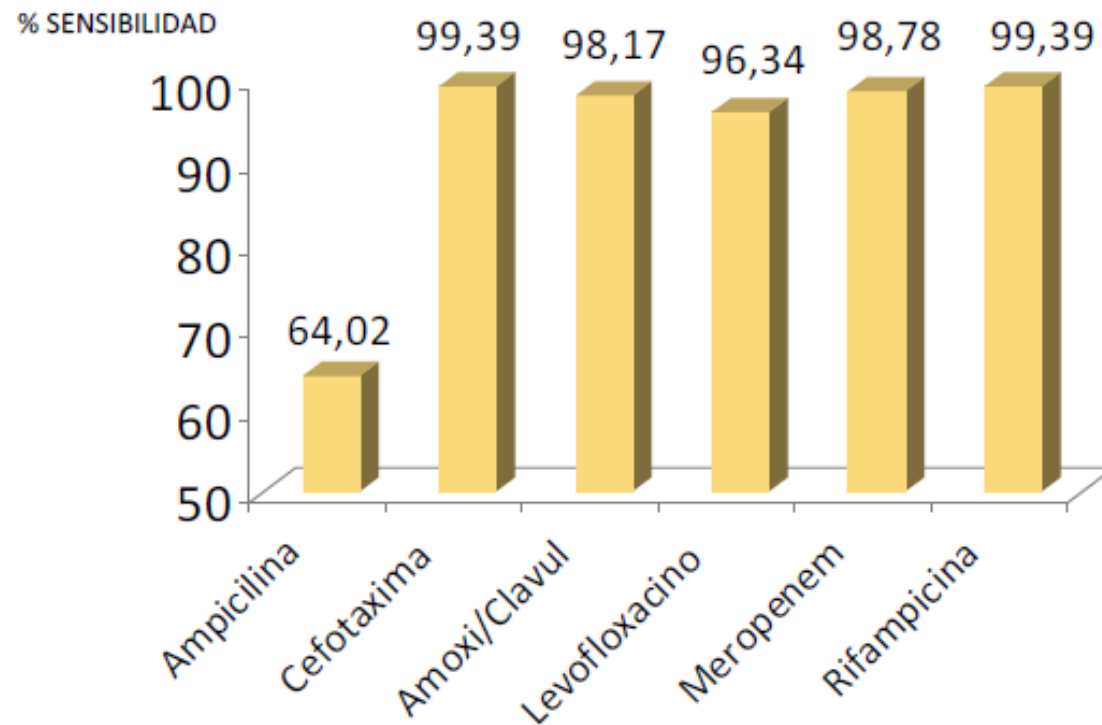
Pseudomonas spp

(n= 982 aislados; 585 pacientes)



H. influenzae

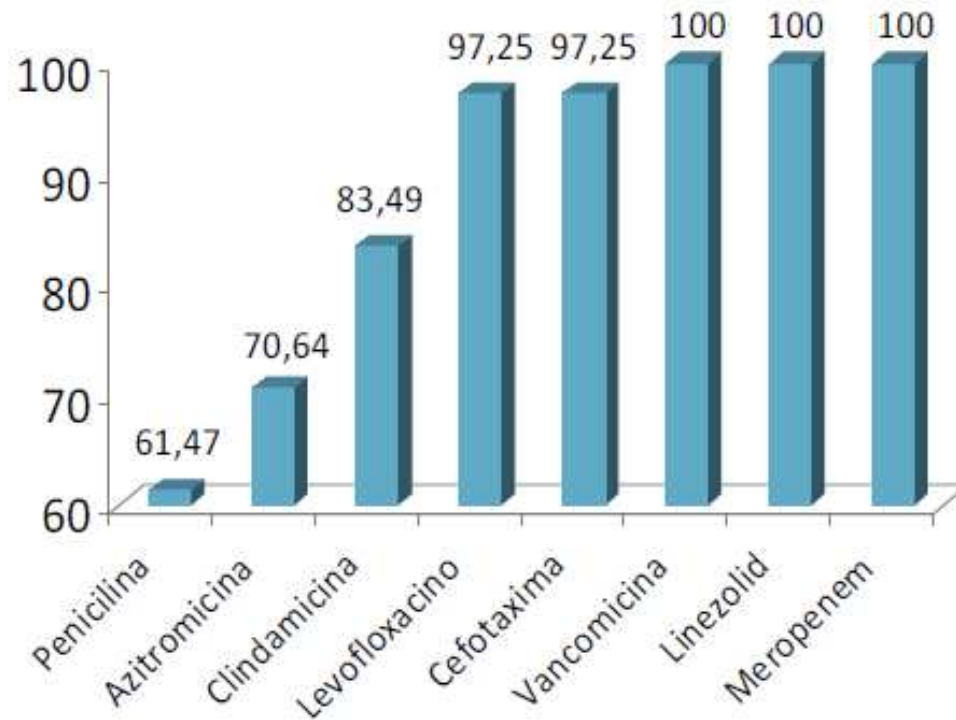
(n= 183 aislados; 167 pacientes)



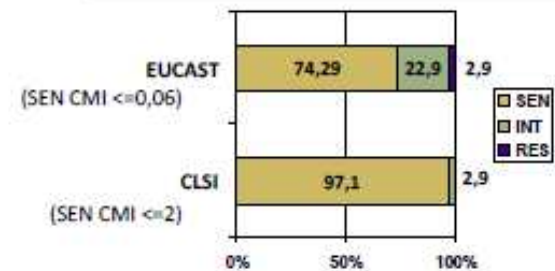
S. pneumoniae

(n= 118 aislados; 109 pacientes)

% SENSIBILIDAD



SANGRE n= 35 aislados



PENICILINA

(en muestras de no meningitis)

Escherichia coli BLEE

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>E.coli</i>	n= 2507	Pacientes con <i>E.coli</i>	n= 1895
Aislados* de <i>E.coli</i> BLEE	n= 303	Pacientes* con <i>E.coli</i> BLEE	n= 195

(* en muestras clínicas)

***E.coli* productor de BLEE en el HGUA en 2016: 10,3 %**

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>E.coli</i> <u>en sangre</u>	n= 258	Pacientes con <i>E.coli</i> en sangre	n= 243
Aislados de <i>E.coli</i> BLEE en sangre	n= 35	Pacientes con <i>E.coli</i> BLEE en sangre	n= 29

***E.coli* BLEE en SANGRE en el HGUA en 2016: 11,9 %**



11,6 %
2015

Klebsiella pneumoniae BLEE

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>K.pneumoniae</i>	n= 903	Pacientes con <i>K.pneumoniae</i>	n= 657
Aislados* de <i>K.pneumoniae</i> BLEE	n= 219	Pacientes* con <i>K.pneumoniae</i> BLEE	n= 113

(* en muestras clínicas)

K.pneumoniae productor de BLEE en el HGUA en 2016: **17,2 %**

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>K.pneum.</i> <u>en sangre</u>	n= 89	Pacientes con <i>K.pneum.</i> en sangre	n= 83
Aislados de <i>K.pneum.</i> BLEE en sangre	n= 20	Ptes con <i>K.pneum.</i> BLEE en sangre	n= 16

K.pneumoniae BLEE en **SANGRE** en el HGUA en 2016: **19,3 %**



20,3 %
2015

Klebsiella pneumoniae RES carbapenem

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>K.pneumoniae</i>	n= 903	Pacientes con <i>K.pneumoniae</i>	n= 657
		Pacientes* con <i>K.pneumoniae</i> RES	n= 25
		(* en muestras clínicas)	

K.pneumoniae RES a carbapenems en el HGUA en 2016: **3,8 %**

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>K.pneum.</i> <u>en sangre</u>	n= 89	Pacientes con <i>K.pneum.</i> en sangre	n= 83
		Ptes con <i>K.pneum.</i> RES en sangre	n= 8

K.pneumoniae RES en **SANGRE** en el HGUA en 2016: **9,6 %**



2,2 %
2015

Pseudomonas aeruginosa RES carbapenem

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>P.aeruginosa</i>	n= 892	Pacientes con <i>P.aeruginosa</i>	n= 601
		Pacientes* con <i>P.aeruginosa</i> RES	n= 102

(*en muestras clínicas)

P.aeruginosa RES a carbapenems en el HGUA en 2016: **17 %**

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>P.aeruginosa</i> <u>en sangre</u>	n= 39	Pacientes con <i>P.aerugin</i> en sangre	n= 33
		Ptes con <i>P.aerugin</i> RES en sangre	n= 7

P.aeruginosa RES en **SANGRE** en el HGUA en 2016: **21 %**



Staphylococcus aureus meticilin RES

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de *S.aureus* n= 979

Pacientes con *S.aureus* n= 666

Pacientes* con SAMR n= 92

(*en muestras clínicas)

SAMR en el HGUA en 2016:

13,8 %

Procedencia HGU Alicante:

Aislados de *S.aureus* en sangre n= 65

Pacientes con *S.aureus* en sangre n= 58

Pacientes con SAMR en sangre n= 3

SAMR en SANGRE en el HGUA en 2016:

5 %



25,3 %
2015

CARTERA DE SERVICIOS

ANÁLISIS	MUESTRA	VALORES REFERENCIA	TIEMPO DE RESPUESTA	OBSERVACIONES
Detección de anticuerpos				
Virus Epstein Barr - VCA Ig G - VCA Ig M - Anticuerpos heterófilos	Suero	Infección aguda: IgM positiva	Menos de 24 horas.	Urgencia: Menos de 2 horas
Toxoplasma gondii - Ig M - Ig G - Avidéz de IgG	Suero	Infección aguda: IgM positiva. Confirmación con positividad de IgA y baja avidéz de IgG	Cribado (IgG, IgM). Menos de 24 horas	Si Ig M es positiva, se ampliará el estudio a Ig A y avidéz de IgG
Sífilis - RPR - Ig G (ELISA) - IgM (ELISA)	Suero LCR	Confirmación de diagnóstico: Ig G positiva	RPR e Ig G: Menos de 24 horas IgM: Menos de 7 días	Todo RPR positivo se confirmará automáticamente
Micoplasma pneumoniae - Ig G - Ig M	Suero	Infección aguda: IgM positiva	Menos de 24 horas	
Brucella - Rosa de Bengala - ELISA IgG - ELISA IgM Inmunocaptura	Suero	Infección: Presencia de anticuerpos	Rosa Bengala: Menos de 24 horas ELISA: Menos de 24 horas Inmunocaptura: Menos de 7 días	Urgencia: Rosa de Bengala en menos de 2 horas
Salmonella Aglutinaciones:	Suero	Prueba poco sensible y específica	Menos de una semana	Se recomienda sustituir por cultivo
Virus herpes 1 y 2 - Ig G - Ig M	Suero	Infección aguda: IgM positiva	Menos de 24 horas	No diferencia infección entre tipo 1 y 2
Citomegalovirus - Ig G - Ig M	Suero	Infección aguda: IgM positiva	Menos de 24 horas	Es poco útil para estudios de reactivación en inmunodeprimidos
Legionella - Ig G - Ig M	Suero	Infección aguda: Positividad de IgM	Menos de 24 horas	Diagnóstico rápido: Detección de Ag en orina Confirmación: Cultivo en medios específicos
Hidatidosis - IgG	Suero	Infección: Presencia de Ac	Menos de 24 horas	Puede ampliar al estudio de subclases de IgG (centro de referencia)

MANUAL DE TOMA DE MUESTRAS



HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE
MICROBIOLOGÍA
MANUAL DE TOMA DE MUESTRAS

RESUMEN: NUEVAS TÉCNICAS



- MALDITOF: Permite identificar bacterias de forma rápida a partir de hemocultivo positivo
- PCR SARM: Identifica la especie y la resistencia a meticilina
- PCR carbapenemasas: Detecta resistencia a carbapenems en enterobacterias
- AB rápido: Permite detectar resistencia a CTX y MER en BGN
- PCR tuberculosis: Identificación y resistencia a fármacos de 1ª y de 2ª línea
- PCR virus respiratorios: Gripe, VRS y Bordetella
- PCR Helicobacter: Detección y estudio de resistencias

FUTURO



PCR MULTIPLEX PARA MENINGITIS/ENCEFALITIS

- *Escherichia coli*
- *Haemophilus influenzae*
- *Listeria*
- *Neisseria meningitidis*
- *S. agalactiae*
- *S. pneumoniae*
- CMV
- Herpes 1,2 y 6
- Enterovirus/parechovirus
- Varicella



CONCLUSIONES

