

PROCESAMIENTO TÉCNICO DE MUESTRAS RELACIONADAS CON LA ORINA, HECES FECALES Y SOLUCIÓN DE LAVADO DE DIÁLISIS PERITONEAL

Autor

Dra. Marcia Hart Casares

Departamento

Microbiología

CONTENIDO

- Cultivo de orina (urocultivo)
- Cultivo de heces fecales (coprocultivo)
- Cultivo de solución de lavado de diálisis peritoneal

UROCULTIVO

Equipos

- Incubadora de 37°C.
- Microscopio óptico.
- Microscopio estereoscopio.

Materiales

- Asas de níquel.
- Pipeta Ependorf de 10 µL.
- Puntas desechables.
- Espátula de cristal.
- Placas petri.
- Lámina cubre y porta objetos.
- Reactivos: Todos los requeridos en el laboratorio.
- Medios de cultivo:
 - ⊕ CLED
 - ⊕ Mc Conkey
 - ⊕ Agar sangre.
 - ⊕ Agar nutriente.

Objetivos

- Determinar la presencia de uropatógenos en la muestra de orina.

Alcance

- Se realizará el cultivo de orina a todas las muestras llegadas al laboratorio, que cumplan con los requisitos para la toma, conservación y transporte de esta muestra. Se incluyen además, las muestras de orina que son tomadas por punción de sondas vesiuretrales o de sistemas colectores cerrados, así como aquellas que se obtienen directamente del riñón en la sala de operaciones

Definiciones

- El cultivo de la muestra de orina se ha demostrado como positiva cuando se aíslan mas de 100 000 unidades formadoras de colonia por mL (ufc/mL).
 - ⊕ **Dudoso** con aislamiento entre 10 000 y 100 000 ufc/mL.
 - ⊕ **Negativo**: menos de 10 000 ufc/mL.
- Si la muestra se obtiene de sistemas colectores cerrados de orina o al puncionar sondas vesiuretrales, con desinfección previa del sitio de punción, de pacientes sometidos a regimenes terapéuticos antimicrobianos de amplio espectro, en particular procedentes de unidades de cuidados especiales, el resultado será valorado como:
 - ⊕ **Positivo**: si el conteo bacteriano está por encima de 1000 ufc para los enteropatógenos aislados e incluso, con tan solo cifras por encima de 100 ufc si se trata de Enterococos.

Responsabilidades

- Técnico y profesional que atienden el cubículo de trabajo.

Condiciones de seguridad y bioseguridad

- Descritas en el manual de bioseguridad del laboratorio.

Operaciones preliminares

- La muestra se recogerá según las normas orientadas:
 - ⊕ Debe llegar la muestra al laboratorio, en frasco ámbar cerrado de forma hermética.
 - ⊕ La muestra recogida en la primera orina de la mañana del segundo chorro y con limpieza previa, como está descrito.
 - ⊕ No debe tener mas de 2 horas de emitida. Si en el laboratorio no puede sembrarse antes de las 2 horas, será conservada a 4°C, antes de proceder a la siembra.
 - ⊕ Será rotulado con su número correspondiente el frasco y la orden al recibirse en el laboratorio.
 - ⊕ La punción de sonda vesicoureteral debe realizarse a 1 o 2 cm del meato uretral, previa desinfección, igual que la extracción de sangre por

venipuntura, con yodopovidona alcohólica preferiblemente. La muestra es tomada con jeringuilla estéril y transportada al laboratorio en tubo estéril herméticamente cerrado.

Procedimiento

Cultivo

- La siembra se realizará con pipeta Ependorf, preferiblemente calibrada de 5 μ L, utilizando puntas estériles, colocando el inóculo sobre la superficie del medio de cultivo empleado. La siembra debe realizarse en medios diferenciales, como es el medio CLED (agar cisteína lactosa deficiente en electrolitos). Se extiende el inóculo con asa de vidrio y se coloca en incubadora a 37°C durante 24 horas para la realización de la lectura visual.

En casos necesarios pueden ser utilizados otros medios de cultivo como el agar sangre o medios comerciales con marcadores cromogénicos, que permiten una mayor diferenciación de los uropatógenos mas frecuentes.

Cálculo e interpretación de los resultados

- Al sembrar 5 μ L (0.005 mL) de la muestra de orina, se realiza el conteo dividiendo la superficie de la placa en 4 cuadrantes. El número de colonias que aparecen en el cuadrante promedio se multiplicará por 200 (para llevar a equivalencia a 1 mL) y después por 4. La cifra resultante corresponde al número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL), en cultivo puro de la cepa responsable de la sepsis urinaria.
- Si no hay crecimiento en la placa o el conteo es menor de 50 ufc/mL, se informa como negativo.
- Si el crecimiento se encuentra entre 50 y 500 ufc/mL sobre la placa del cultivo, se informa la cantidad de colonias leídas y se da como resultado dudoso.
- Si se observan dos tipos diferentes de colonias, se procede a la lectura de ambas.
- Si el crecimiento resultara de más de dos tipos de colonias, entonces se informará como **muestra contaminada**.
- En los casos que el resultado pueda informarse como **positivo** se pasara entonces a la identificación del agente infeccioso por técnicas bioquímicas o serológicas. Posteriormente se realiza el antibiograma, estudiando la sensibilidad y resistencia frente a diferentes agentes antimicrobianos seleccionados.
- El informe se dará entonces como negativo (menor de 10000ufc/ml), dudoso (entre 10000 y 100000 ufc/mL) o positivo con mas de 100 000 ufc/mL, informando el patógeno aislado y su correspondiente antibiograma.

- Si el aislamiento se realiza por punción de sondas vesouretrales o sistemas colectores cerrados todo crecimiento por encima de 1000 ufc/mL es informado o por encima de 100ufc/ml si se trata de un enterococo aislado.
- *La orina obtenida por punción directa del riñón se sembrará en medios diferenciales (CLED) y generales (agar sangre) y se informará de cualquier agente aislado independiente del conteo de colonias en el medio de cultivo.*
- Podemos realizar en casos que así se soliciten el cultivo de orina por el método del **minicultivo**. Permite, con la utilización de medios diferenciales de CLED y agar Mc Conkey, informar de manera rápida, con solo 24 horas el crecimiento de patógenos en la orina. Se realiza el diagnóstico presuntivo, por diferenciación de los tipos de colonias obtenidas según sean fermentadoras o no de lactosa y su crecimiento en los medios descritos. El informe se realiza por grupos afines de microorganismos y **sin** la realización del antibiograma.

COPROCULTIVO

Equipos

- Incubadora de 37°C.
- Microscopio óptico.
- Microscopio estereoscopio.

Materiales

- Asas de nicrón.
- Hisopos de algodón.
- Láminas cubre y portaobjetos.
- Placas para pruebas serológicas.
- Reactivos: los requeridos en el laboratorio.
- Medios de cultivo
 - ⊕ Agar SS (Salmonella Shigella).
 - ⊕ Agar Mc Conkey.
 - ⊕ Agar TCBS.
 - ⊕ Agua de peptona alcalina.
 - ⊕ Medio de selenito de sodio.
 - ⊕ Otros medios diferenciales de uso común del laboratorio.
- Reactivos: los requeridos en el laboratorio y lote de sueros para el tipaje de enteropatógenos.

Objetivos

- Determinar la presencia de bacterias enteropatógenas (*Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Yersinia enterocolitica* y *Vibrionaceas*, en casos especiales *Vibrium cholerae*) en muestras de heces fecales.

Alcance

- Se le realizará a todas las muestras llegadas al laboratorio que cumplan con los requisitos para la toma, transporte y conservación de las muestras y que se le solicite este examen.

Definiciones

- Cepas de *Escherichia coli* productoras de cuadros diarreicos, serán solamente estudiadas si son previamente solicitadas.
- El cultivo de muestras para el aislamiento de *Vibrium cholerae* no se realiza de forma rutinaria. Solo se realizará cuando sea específicamente solicitada.

Responsabilidades

- Técnico y profesional que atienden la sección de trabajo.

Condiciones de seguridad

- Descritas en el manual de bioseguridad del laboratorio.

Operaciones preliminares

- La muestra debe ser fresca, emitida en las primeras horas de la mañana y transportada en frasco herméticamente cerrado. Se rotula el frasco y la orden, por la secretaria al ser recepcionada la muestra con el número correspondiente y se lleva a la sección de urocultivo.

Procedimiento

- Se realiza la siembra con hisopo estéril, tomando la porción idónea de la muestra, presencia de sangre o pus y colocando el inóculo en medios de enriquecimiento (selenito o agua de peptona alcalina si investigamos *V. Cholerae*) y medios selectivos agar salmonella shigella (SS) o medio TCBS (agar tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa). Los medios de cultivo inoculados se incuban a 37°C, realizando lectura visual a las 24 horas. A partir de los medios de enriquecimiento se realiza nueva resiembra a los medios selectivos y se incuban nuevamente a 37°C.

Los medios selectivos por tanto son leídos a las 24 y 48 horas respectivamente.

- El crecimiento de las colonias características en los medios selectivos, que la diferencian de otras enterobacterias comunes presentes en las heces fecales, permiten su aislamiento e identificación por medio de pruebas bioquímicas y serológicas.
- Si se trata de una muestra para la identificación de *Vibrios* y necesita ser transportada utilizar medio de transporte de Cary Blair

Informe de resultados

- Se informarán de inmediato de aislarse las cepas de enteropatógenos descritos. *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* o *Vibrium cholerae*. En todos los casos es necesario su envío a los centros de referencia, para *Salmonella-Shigella* CPHE y de sospecharse *V. Cholerae* Instituto de Medicina Tropical "IPK."

Si no se aíslan bacterias patógenas se informa como no se obtuvo crecimiento de enterobacterias patógenas.

CULTIVO DE SOLUCIÓN DE LAVADO DE DIÁLISIS PERITONEAL

Equipos

- Incubadora de 37°C.
- Microscopio óptico.
- Microscopio estereoscopio

Materiales

- Asas de níquel.
- Tubos 18 x 150.
- Láminas cubre y portaobjetos.

Reactivos

- Los de uso en el laboratorio.

Medios de cultivo

- Los de uso en el laboratorio.

Objetivos

- Determinar la presencia o no de microorganismos patógenos en la solución de lavado de diálisis peritoneal.

Alcance

- Se le realizará a todas las muestras llegadas al laboratorio y que cumplan con los requisitos de toma, transporte y conservación de las muestras.

Definiciones

- Todo crecimiento cualitativo se informará como positivo.

Responsabilidades

- Técnico y profesional que atienden la sección de trabajo.

Condiciones de seguridad y bioseguridad

- Las descritas en el manual de BIOSEGURIDAD del laboratorio.

Operaciones preliminares

- Las muestras se recibirán en medio general de tioglicolato, (fueron sembradas o inoculadas previamente en el servicio de diálisis) se clasifican y se rotulan antes de proceder a la siembra.

Procedimiento e Interpretación de resultados

- Se incuba el medio de tioglicolato con la muestra en incubadora de 37°C, durante 72 horas, realizándose lecturas diarias. Si no hay turbidez del medio a las 72 horas se informa como negativo.

De observar turbidez por crecimiento de microorganismos en los medios líquidos de tioglicolato, se realiza resiembra a medios generales de crecimiento como agar sangre. Los gérmenes aislados se identifican por pruebas bioquímicas, se realiza el antibiograma como está descrito y se informa la el agente biológico aislado con sus patrones de sensibilidad y resistencia.