



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín del Hospital Clínico**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de Ciencias Médicas**. Este tiene el propósito de evidenciar la evolución del contenido y poner a disposición de nuestra audiencia documentos académicos originales que han impulsado nuestra revista actual, sin embargo, no necesariamente representa a la línea editorial de la publicación hoy en día.

USO DEL LABORATORIO DE DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

EN LAS INFECCIONES QUIRURGICAS

Dr. Francisco Montiel A.

USO DEL LABORATORIO DE DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO EN
LAS INFECCIONES QUIRURGICAS

Dr. Francisco Montiel A.

El propósito de esta discusión, es el de revisar qué puede ofrecer a los médicos en general, el Laboratorio de Bacteriología, en el apoyo y manejo de un problema clínico.

Aún cuando el Laboratorio podría entregar una información mayor y más útil, habitualmente no se utiliza su capacidad potencial. Esto se debe a diferentes causas que se discutirán más adelante con mayor detalle. A la inversa, en ocasiones se espera un mayor rendimiento del que el laboratorio es capaz de dar, cifrándose infundadas esperanzas y perdiéndose tiempo a la espera de información que éste no podrá aportar.

El ideal de manejo de un Laboratorio de Bacteriología, es contar con un médico bacteriólogo clínico, ya que así se podrá obtener mayor integración entre la clínica y el diagnóstico bacteriológico; esta situación sólo se da en contados centros médicos. Al no contar con este especialista, es importante analizar con algún detalle los aspectos más fundamentales que redundarán en una mejor integración entre el laboratorio y el clínico. En primer lugar debe existir una muy buena comunicación entre estas dos instancias, ya que se necesita de una serie de informaciones para poder en cierta medida adecuar el procedimiento de diagnóstico bacteriológico a la patología del paciente. El siguiente ejemplo aclara este punto: una determinación de azúcar en sangre (glicemia) de acuerdo a un método standard,

dará exactamente la misma cifra en todos los laboratorios en que se procese dicho examen, dependiendo de la precisión del tecnólogo que lo realice; pero es completamente independiente de cualquier otra circunstancia. En cambio en el caso de un examen bacteriológico hay una serie de factores que intervienen en el resultado. Tomemos como ejemplo algo simple, como una secreción faríngea: si no se dispone de un diagnóstico clínico, será bastante más difícil para el laboratorio poder aislar exactamente el germen en que el clínico está interesado. Supongamos que trata de investigar la presencia de una asociación fuso-espirilar: si no se menciona esta situación pudiera ser que la muestra se informe como con desarrollo de flora normal, debido a que éstos gérmenes no se desarrollan en los cultivos corrientes. Sin embargo si se hubiese tenido el diagnóstico clínico presuntivo, se habrían tomado las provisiones del caso para hacer un estudio directo con tinción de Gram, lo cual revelaría la presencia de estos gérmenes. Si pensáramos que al pedir la tinción de Gram, obviamos este problema, nos encontramos con el ideal para visualizar a este particular grupo de bacterias y espirilos es efectuar una tinción modificada de Gram. Esto deja en claro el hecho de la necesidad de disponer del máximo de información, para poder procesar y analizar los resultados en la mejor forma posible y con el mayor rendimiento para el clínico.

Toma de muestras

Frente a este extenso capítulo sólo daremos las recomendaciones generales y los remitiremos a las diferentes publicaciones que estandarizan aquellos procedimientos.

Debe ser tomada por una persona idónea, empleando equipo estéril, y con las mayores precauciones de asepsia. Debe así mismo ser representativa del proceso infeccioso de que se trate. La muestra debe ser colocada en receptáculos adecuados y estériles: debe existir una adecuada

cantidad y el envío debe hacerse de inmediato al laboratorio. El hecho de alargar el tiempo que media entre la recolección de la muestra y su procesamiento, va en detrimento de la positividad de los exámenes, o bien en la posibilidad de falsear los resultados por flora contaminante que se desarrolla más rápidamente y se sobrepone a la flora infectante.

Especial cuidado habrá de tomarse en muestras de L.C.R., en donde se pretende aislar gérmenes como Meningococo o Hemophilus, debido a la gran labilidad de éstos, a condiciones adversas y a la presencia de enzimas autolíticas. El envío de muestras en tómulas, debido a la facilidad con que éstas se desecan, también constituye un factor adverso al aislamiento de gérmenes en determinadas circunstancias. Las secreciones con gran contenido purulento, debido a su bajo pH, condicionan una situación desfavorable para el aislamiento de bacterias de fragilidad mediana o alta. Las muestras de orina, se deben procesar antes de que se cumplan 30 minutos desde que han sido recolectadas, ya que los gérmenes presentes pueden multiplicarse a la temperatura ambiente y por consiguiente falsear el recuento, dato de extraordinario significado cuando se trata de certificar de si estamos o no frente a una infección urinaria. Algunas muestras podrán ser guardadas en refrigeración antes de enviarlas al laboratorio, si no hay facilidades para hacerlo de inmediato; esto adquiere gran valor en muestras de orina. Otras muestras en cambio, no deben ser refrigeradas por ningún motivo si se pretende aislar bacterias anaeróbicas.

El momento en que se toma la muestra es de gran importancia. Bajo toda circunstancia debe hacerse antes de iniciar terapia con antibióticos. Esto no significa desconocer la utilidad que tiene el procesar muestras en sujetos bajo terapia antibiótica, ya que el aislamiento de

bacterias permitiría ir controlando del progreso del tratamiento o en su defecto la necesidad de modificarlo.

La correcta identificación de las muestras, la debida y adecuada información que debe acompañar a las solicitudes de examen, son aspectos de extraordinaria importancia. En ellas debe colocarse: Nombre completo del enfermo, edad, ubicación del enfermo, tipo de muestra, examen solicitado, diagnóstico clínico (que oriente la búsqueda de agente etiológico que se realizará en el laboratorio de bacteriología). Si no se dispone de este último dato, al menos debe existir una presunción del agente que se pretende pesquisar. Debe indicarse si ha habido tratamiento antibiótico previo, qué tipo de antibiótico y qué dosis diarias se están empleando al momento de enviar la muestra, existencia de tratamientos concomitantes: corticoides, inmunosupresores, etc. Debe indicarse si existe alguna alteración de los mecanismos de defensa del paciente o si se sospecha que ello pudiera estar ocurriendo.

Es importante destacar que en la investigación de anaerobios, la muestra debiera ser tomada en lo posible con jeringa desechable, a la que una vez llenada con la muestra, debe evacuársele en posición vertical el aire contenido y luego clavar la aguja en un tapón de goma. Se recomienda también que no debieran tomarse muestras de zonas determinadas, o a través de zonas altamente contaminadas con bacterias anaeróbicas. Este es el caso de boca, intestino, vagina, uretra, en las que la flora de contaminación o habitual, está constituida por una alta proporción de gérmenes anaeróbicos. Sólo para dar un ejem-plo, por cada Escherichia coli existente en el colon hay entre 1.000 y 10.000 bacterias anaeróbicas.

Manipulación de muestras en el laboratorio

El primer paso en el laboratorio, debiera ser siempre el examen directo con tinción de Gram o alguna de sus modificaciones, de acuerdo a lo que se persiga. Esto es particularmente cierto en todas las muestras de material purulento, tanto intracavitarias, como intraparenquimatosas, como en las exudaciones de heridas. Este paso inicial permite establecer un primer diagnóstico del tipo de germen, lo que puede servir en la orientación del tratamiento antibiótico. Al mismo tiempo permite determinar la presencia y proporción de los diferentes gérmenes en infecciones mixtas, ya que en los medios de cultivo, por diferentes **circunstancias** podrían alterarse estas proporciones o bien modificarse el número de cepas presentes. Esto último es especialmente útil en el caso de gérmenes que se observan en el examen directo y que más adelante no se les llega a aislar en cultivos. Ello estaría indicando que se trata de bacterias de muy altos requerimientos nutritivos o de gérmenes anaeróbicos estrictos o aerotolerantes, que debido a un exceso de oxigenación en el medio corriente, no se les aisló. Los líquidos obtenidos de cavidad pleural, articular, así como el líquido cefalorraquídeo, deberán ser observados con tinción de Gram una vez centrifugados. En muestras de orina, también puede usarse la tinción de Gram tanto de orina centrifugada como no centrifugada, sobre todo en aquellos casos en que se utiliza este sistema como medio de conocer aproximadamente el recuento bacteriano. Si embargo, hay ocasiones en que la tinción de Gram no tiene valor, por la baja proporción de microorganismos presentes (sangre), o bien por su exagerado número (deposiciones).

El procesamiento, continúa con la siembra de la muestra en diferentes medios nutricios, adecuados a **las bacterias** que se pretenda aislar: de aquí la importancia del diagnóstico o bien del conocimiento por parte del laboratorio del tipo de germen causal en que se está pensado. Es

así por ejemplo, que si se sospecha una meningitis purulenta, habrá que disponer de medios capaces de permitir el desarrollo de los gérmenes habituales, así como de aquellos más fastidiosos de cultivar. Esto implica el disponer de diversos medios de cultivo, que favorezcan a uno u otro tipo de germen. El caso será totalmente diferente si se pretende aislar un Mycobacterium tuberculosis. Muchas veces el clínico no piensa en esta posibilidad y no solicita específicamente este tipo de examen, lo que lleva a perder irremisiblemente una muestra.

Este es el momento de dar algunos ejemplos de ciertos hechos que nos permitirían apreciar más exactamente el problema de la desinformación. Es el caso de envío de una secreción purulenta, sin ninguna especificación, en que se solicita Gram y cultivo, y no hay ningún resultado positivo. Habría sido totalmente distinto si en esta muestra la solicitud de examen hubiese traído al menos el diagnóstico, aunque no se solicitaran los exámenes adecuados. ¿En qué se puede pensar con los datos más arriba expresados? Supongamos que el diagnóstico era de "Adenitis Tuberculosa", el laboratorio hubiese podido procesar la muestra según lo solicitado y además hacer una Baciloscopía, la cual habría sido positiva.

Es importante también, que el clínico esté en contacto con el laboratorio de bacteriología y se compenetre de la forma en que se expresan los informes y de su significado. Es lo más probable que los diferentes laboratorios bacteriológicos, tengan algo en común, pero gran parte de la información se dé muy de acuerdo con la formación del encargado de cada laboratorio en particular y de su equipo de colaboración. Es así como, para aclarar con un ejemplo, tenemos el caso de las secreciones uretrales. En el cultivo se informan gérmenes banales, de flora normal, en cambio en el Gram directo, se describe la presencia de diplococos Gram-negativos; esto nos podría hacer

pensar de inmediato en Gonococo. ¿Cuántos serán los casos en que incluso se llega a dañar la relación conyugal por un desliz, no del marido, sino de quien interpreta este examen directo?. Pudiera tratarse sólo de una Moraxella, que produce uretritis inespecífica. Sin embargo en algunos laboratorios se informa la presencia de estos gérmenes como Gonococos. No se puede dar nombre, ni siquiera de género bacteriano, a gérmenes vistos en exámenes directos de muestras de pacientes; ello puede llevar a graves consecuencias. También suele informarse en las baciloscopías la presencia de Mycobacterium tuberculosis; no se puede asegurar el diagnóstico de género y especie sin antes disponer del cultivo del germen y además de su identificación bioquímica.

Otro hecho frecuente, es la petición de exámenes que no dan ningún rendimiento, como es el caso de una tinción de Gram de la secreción faríngea, salvo que se trate específicamente de buscar la angina de Vincent o una Difteria. Por otra parte con frecuencia se deja de solicitar un examen que habría ayudado considerablemente con las mismas molestias para el paciente, sin obligarlo a someterse en una segunda instancia a nuevos exámenes. Nos referimos específicamente al caso de las muestras de contenido gástrico y L.C.R., en la investigación de la tuberculosis; en estos casos hay obligación de solicitar conjuntamente la baciloscopia y el cultivo. ¿Qué pasaría si la baciloscopia de un L.C.R., o un contenido gástrico dieran positividad; podría aceptarse que se trata de una tuberculosis, sin siquiera haber cultivado el germen y haberlo identificado?. Recordemos la importancia de los principios de Koch por un sólo momento y veremos la gran aplicación que tienen en esta clase de decisiones.

Siguiendo con el procesamiento, una vez hecha la siembra en los medios más adecuados, se procede a la incubación, la cual variará en cuanto a temperatura y tiempo

de observación, también en relación al germen que se quiere aislar. De aquí la necesidad de volver a señalar la importancia de saber qué agente etiológico se está buscando.

Una vez obtenido el desarrollo de los gérmenes, procede asignárseles o no valor en su rol patógeno en relación al tipo de muestra y de patología que se sospecha. Para ésto debemos asegurarnos por todos los medios de que dispongamos de un certero, seguro y rápido método de identificación de dichos gérmenes. Esto incluye nuevamente el Gram y luego recultivar, reaislar y luego efectuar una serie de pruebas bioquímicas y serológicas para llegar a su identificación. Esto por supuesto consume tiempo y mientras más perfección y certeza en la identificación se persiga, más largo será dicho plazo. Sin embargo hay que transar a veces en el tiempo, el que siempre angustia al clínico, en perjuicio de dicha certeza y seguridad; sin embargo no debe caerse en el otro extremo, de proceder exclusivamente sobre un diagnóstico presuntivo.

En técnicas especiales como son los hemocultivos, es de extraordinario interés destacar algunos puntos válidos que pueden mejorar su rendimiento. No se pretende llegar en ningún caso a hacerlo óptimo, por problemas que están por el momento más allá de nuestro control, como es la imposibilidad de realizar cultivos en completa anerobiosis. Pero si se toma en cuenta la temperatura de incubación que debiera ser de 35°C. en lugar de los convencionales 37°C, si se emplea como anticoagulante polianetolsulfonato de sodio (Liquoid), si se mantiene una relación de muestra/medio de cultivo de 1/10 como mínimo, tomando unos 5 ml de sangre en el adulto y entre 1 y 3 ml en el niño, se puede lograr un cierto grado de elevación del rendimiento. Es importante también el revisar diariamente los hemocultivos y no contentarse con efectuar solamente tinciones: debe procederse a resemebrarlos ante cualquier sospecha, usando medios que permitan el desarrollo de bacterias más

fastidiosas de cultivar. Aquí también cabe la recomenda
ción a los clínicos, de no exagerar la nota con el núme
ro de hemocultivos solicitados. No mejora el rendimien-
to de este examen aumentando el número de muestras: Se
dice que después del 7° hemocultivo, ya no se logra un
incremento significativo en la positividad de ellos. Por
el contrario, si se piensa en nuestros laboratorios, con
escasez de recursos humanos y materiales, dicho recargo
redundará en una peor pesquisa diaria del desarrollo
bacteriano en hemocultivos.