

CULTIVO CUANTITATIVO DE TEJIDOS

Propósito del examen. El cultivo cuantitativo de tejidos se realiza para detectar bacterias que sean agentes causales de infección.

Principio y método del procedimiento utilizado para el examen. La presencia de bacterias en el tejido en cantidades significativas es un factor que correlaciona con infección. Este procedimiento describe la colección y proceso de tejidos o hisopados y el cultivo cuantitativo. Preferentemente se usa tejido, pero cuando éste no está disponible, un hisopado puede ser conveniente y si se procesa de manera cuantitativa, puede ser indicador de un proceso infeccioso. El cultivo cuantitativo permite confirmar el diagnóstico de infección y la realización de pruebas de susceptibilidad.

Características de desempeño. A definir por cada laboratorio

Tipo de muestra. Biopsia de tejido o hisopados

Preparación del paciente, toma de la muestra, evaluación de la calidad y conservación de la muestra

Consideraciones generales.

- Preferentemente colectar la muestra antes del inicio de la terapia.
- Tomar muestra preferentemente de tejido infectado, más de que detritos superficiales.

Hisopados cuantitativos

Las heridas superficiales son frecuentemente hisopadas para colectar la muestra porque no hay suficiente fluido o aspirado

- Solo tomar muestra de heridas infectadas, crónicas o que no estén curando.
- Las heridas superficiales o profundas, incluyendo las mordeduras, deben ser cultivadas solo si están clínicamente infectadas, en deterioro o que no estén curando.
- Toma de muestra:
 - Para heridas abiertas, debridar, si es apropiado, y enjuagar abundantemente con solución salina antes de tomar la muestra.
 - Rotar la superficie del hisopo aproximadamente 5 veces enfocándose a las áreas con inflamación o pus.
 - Colocar el hisopo en medio de transporte como el de Stuart o el Amies.
 - Para cultivo cuantitativo, usar solo hisopos de alginato

Biopsias y tejido.

- Toma de muestra:
 - Toma de la muestra (de acuerdo con el hospital)
 - Enviar biopsias de 1 X 2 cm o mayores colectadas después de limpiar y realizar desbridamiento). Esto representa aproximadamente 500 mg de tejido.
 - Enviar al laboratorio sin medio de transporte. Depositar en un contenedor cerrado estéril.

Criterios de rechazo

- No se aceptan muestras con formol
- Si la muestra es insuficiente para cuantificación, procese para estudio cualitativo.

Equipo y reactivos requeridos

- EMB o agar MacConkey
- Agar chocolate para abscesos cerrados, tejidos quirúrgicos, biopsias, aspirados
- Agar sangre
- Caldo tioglicolato o salina para las diluciones
- Reactivos para identificación de acuerdo con el laboratorio
- Material para pruebas de sensibilidad a los antibióticos de acuerdo con el laboratorio
- Incubadora de 35-37 °C, aerobiosis
- Incubadora de 35-37 °C, 5% de CO₂

Controles ambientales y de seguridad. A definir por cada laboratorio

Procedimientos de calibración (trazabilidad metrológica). A definir por cada laboratorio

Pasos del procedimiento

- Para cualquiera de las muestras, sacar las placas para siembra del refrigerador y permitir que se atemperen.

Biopsias.

1. Pese el tubo que contiene el tejido en una balanza analítica
2. Remueva el tejido usando una técnica aséptica y colóquelo en un tubo con 5 ml de solución salina estéril . Este representa una dilución 1: 5 de tejido
3. Vuelva a pesar el tubo vacío para calcular el peso de la muestra por diferencia (en gramos o miligramos).
4. Homogenice el tejido por 15 o 30 s
5. Siembre 0.1 ml en cada placa. Etiquete como 10⁻¹,
6. Haga de una a 3 diluciones seriadas 1:10 con alícuotas de 0.5 ml y 4.5 ml de salina por alícuota.
7. Siembre 0.1 ml de cada dilución
8. Etiquete las placas como 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴.
9. Estriar de manera cuantitativa (sin flamear)

Hisopados.

1. Coloque el hisopo en 5 ml de solución de Ringer .
2. Mezcle en vortex y remueva el remanente del hisopo (el hisopo se debe disolver)
3. Haga diluciones 1:10 en salina tal como se procesó para tejido

Incubación de las placas de todas las muestras

- El agar EMB o MacConkey, se incuban a 35-37°C en atmósfera aeróbica por hasta 2 días (revise la cuenta a las 24 h).
- El agar sangre, agar chocolate se incuban a 35-37°C con CO₂ al 5% por hasta 2 días (revise la cuenta a las 24 h).

Examen microscópico.

1. Coloque .01 ml del homogenado en un área aproximada de 1 cm²
2. **Hacer tinción de Gram (de acuerdo con protocolo de laboratorio).**
3. Examine en objetivo 100X. Los organismos visibles en la tinción están al menos en cantidad 10⁵ por gramo de tejido de muestra

Interpretación.

- Determine el número de organismos por gramo de tejido que crezca entre 30 y 300 colonias.
- Calcule el número total mediante el número de colonias por el factor de dilución

Ejemplo:

Tejido: 0.3 gramos

Si la cuenta fueron 50 colonias en la placa 10⁻³

Entonces:

$$\frac{50 \text{ UFC} \times 5 \text{ (dilución del homogenado)} \times 10^3 \text{ (dilución de la placa)}}{0.3 \text{ gramos}} = 8.3 \times 10^5 \text{ UFC/ml}$$

Reporte de resultados

Reportar número de UFC por gramo de tejido o por hisopo

Procedimientos de control de la calidad. **A definir por cada laboratorio**

Interferencias y reacciones cruzadas. Los resultados de estos cultivos se ven afectados por el consumo de al menos una dosis de antibiótico

Principio del procedimiento para el cálculo de resultados incluyendo, cuando sea relevante, la medición de la incertidumbre de los valores de la magnitud medida.
NA.

Valores de alerta o críticos, cuando sea apropiado. **A definir por cada laboratorio.**

Interpretación clínica del Laboratorio. **Definir en cada laboratorio**

Fuentes potenciales de variación. La presencia y cantidad de bacterias se puede ver afectada por múltiples factores, tales como el consumo de al menos una dosis de antibiótico.

Referencias

- Amy L Leber. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4th Edition. ASM Press. 2016. Chapter 3.13.2.3
- Forbes A. Betty et al. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico, 13^a Edition. Editorial Elsevier. 2014. Chapter 69.