Cultivo de líquido cefalorraquídeo

La toma debe realizarse con las máximas condiciones de asepsia, para evitar la contaminación de la muestra, y ésta no debe ponerse nunca en contacto con antisépticos o desinfectantes.

Siempre que sea posible, el LCR, como el resto de muestras clínicas, debe obtenerse antes de la instauración de tratamiento antibiótico, si bien los procedimientos diagnósticos no deben retrasar jamás su comienzo.

El recipiente utilizado debe ser estéril, estar cerrado herméticamente y convenientemente identificado con los datos del paciente y el tipo de muestra.

Es muy importante que se aporten los datos clínicos, epidemiológicos y tratamientos previos, relacionados con la petición realizada, para orientar los estudios a realizar y la posterior interpretación de los resultados. Además, en la solicitud se debe anotar la fecha y la hora de la toma de la muestra, así como datos de la persona que hace la extracción.

Para el diagnóstico de las meningitis y encefalitis víricas es aconsejable realizar la toma de una muestra de sangre para la obtención de suero en el mismo momento de la toma del LCR a fin de poder realizar estudios serológicos.

En el caso de pacientes con meningismo y fiebre será preceptiva la obtención de hemocultivos.

El LCR de un paciente con sospecha de meningitis es la muestra clínica de mayor prioridad en un laboratorio de microbiología clínica y debe ser procesado de manera inmediata en todos los casos. Para su procesamiento es aconsejable seguir las recomendaciones detalladas en el Procedimiento de la SEIMC nº 1 (2ª edición): “Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología”. La validez de las muestras recibidas en el laboratorio depende del cumplimiento de una serie de normas relacionadas con el procedimiento de obtención, la cantidad de muestra obtenida y el adecuado transporte. La toma debe realizarse con las máximas condiciones de asepsia, para evitar la contaminación de la muestra, y ésta no debe ponerse nunca en contacto con antisépticos o desinfectantes.

OBTENCIÓN

La muestra adecuada para el diagnóstico microbiológico de la meningitis es el LCR, que normalmente se obtiene mediante punción lumbar. La punción lumbar se realizará en condiciones de asepsia rigurosa. Se limpiará la piel en la zona de punción abarcando una superficie de unos 10 cm2 con alcohol y después se aplicará una solución antiséptica como alcohol yodado, povidona yodada o solución alcohólica de clorhexidina al 0,5%, dejando actuar1 minuto. La punción se realizará de ordinario en los espacios intervertebrales L3-L4 o L4-L5. El LCR se recogerá en tubos estériles, siempre que sea posible se obtendrán dos tubos, uno para análisis citoquímico y otro para estudio microbiológico, seleccionando siempre el más turbio para la realización de pruebas de diagnóstico microbiológico. Las muestras de LCR obtenidas en punciones traumáticas o las procedentes de pacientes con hemorragia subaracnoidea pueden coagularse debido al alto contenido hemático, dificultando el recuento celular. En ningún caso deben emplearse tubos heparinizados para recoger las muestras de LCR para los análisis microbiológicos. En las derivaciones externas, el LCR se obtendrá a través del catéter ventricular o lumbar. Para asegurar la esterilidad, se aplicará un antiséptico en la llave antes de realizar la obtención de la muestra y después de la misma. En las derivaciones internas, el LCR se obtendrá por punción directa del reservorio o de la válvula, o a través del catéter distal externalizado. La punción del reservorio debe realizarse asimismo con todas las

medidas de asepsia para evitar la infección iatrogénica o la contaminación de la muestra. Si hay signos de infección, se debe obtener muestra para cultivo de la herida quirúrgica o decúbitos cutáneos del trayecto del catéter. En algunos procesos infecciosos del sistema nervioso central se deben recoger otras muestras como pus de los abscesos o biopsias.

VOLUMEN MÍNIMO

Dado el bajo número de microorganismos habitualmente presentes en este tipo de muestras, el volumen disponible condiciona de manera muy clara la sensibilidad de las diferentes técnicas diagnósticas, aunque dada la dificultad en la obtención de estas muestras, cualquier cantidad debe ser aceptada para cultivo. Es muy importante especificar claramente las determinaciones que se solicitan: bacterias convencionales, micobacterias, virus, hongos o parásitos. Debe tenerse en cuenta que cada una de ellas precisa de técnicas específicas y consume una parte del producto que ya no va a estar disponible para las otras determinaciones. Para el estudio de bacterias o virus habituales se necesita 1 ml en cada caso, y si además deben investigarse hongos o micobacterias es necesario disponer de 2 ml adicionales para cada uno de estos estudios, e idealmente llegar a los 10 ml en total. En caso de no disponer de cantidad suficiente para realizar estos estudios, se priorizan en función de la sospecha etiológica.

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

El transporte se realizará de forma inmediata tras la obtención de la muestra, y la entrega siempre se hará en mano, no debiéndose emplear para ello sistemas de transporte automatizados como el tubo neumático. Las muestras deben procesarse de forma inmediata y en caso de que esto no sea posible se conservarán en la estufa a 35ºC ± 2ºC o a temperatura ambiente hasta su procesamiento en un plazo máximo de 24 horas. Las muestras de LCR para investigación de virus se conservarán refrigeradas a 2-8ºC.

RECEPCIÓN EN EL LABORATORIO

Una vez que la muestra se recibe en el laboratorio hay que comprobar que cumple los requisitos necesarios para su procesamiento, incluyendo una correcta identificación, volumen y condiciones de transporte y conservación. En el caso del LCR, los criterios de rechazo de la muestra deben reducirse al máximo. No deben aceptarse muestras no identificadas o aquellas en los que los datos no coincidan con los de la solicitud. Tampoco se aceptarán las muestras recogidas en recipientes no estériles ni las conservadas en formol u otros aditivos. Estas incidencias se registrarán adecuadamente y se informarán al médico responsable del paciente.

DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO

La observación de microorganismos en la tinción de Gram del LCR, aunque es la medida más rápida y directa para orientar el diagnóstico no permite por sí sola confirmar inequívocamente el diagnóstico etiológico. La confirmación de un caso de meningitis bacteriana aguda se realiza mediante la demostración de la presencia del microorganismo en el LCR, y suele realizarse mediante cultivo o detección del ADN bacteriano. También es posible hacerlo por la detección de antígenos específicos, aunque el empleo de esta técnica para confirmar un episodio es menos recomendable que los dos métodos anteriormente citados. Como ya se ha comentado, en todos los casos sospechosos de meningitis bacteriana aguda, independientemente del resto de medidas, deben obtenerse muestras de sangre para la realización de hemocultivos. La obtención de otras muestras queda sujeta a la presentación clínica de cada caso. El cultivo del LCR es el método óptimo de confirmación y hoy en día continúa siendo el método de referencia. El aislamiento de la bacteria, además del diagnóstico etiológico, permite la realización de pruebas complementarias, como pruebas de sensibilidad a los

antimicrobianos y estudios de tipificación. La principal limitación del cultivo bacteriano es su baja rentabilidad cuando las muestras investigadas provienen de personas que han recibido tratamiento antibiótico previo.

La detección de ADN mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos en tiempo real ha supuesto el mayor avance diagnóstico durante los últimos años. Las técnicas genómicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real no pueden sustituir de momento al cultivo tradicional como método diagnóstico de referencia de las infecciones bacterianas agudas, pero son complementarias, aportando una serie de ventajas respecto a éste que la convierten en una herramienta de uso rutinario en los laboratorios de microbiología. Las técnicas de PCR en tiempo real permiten identificar y cuantificar el producto amplificado en el momento en que se está produciendo la reacción utilizando marcadores fluorescentes. Las mayores ventajas de esta técnica consisten en la simplificación máxima del procedimiento, la rapidez con que se obtienen los resultados y la virtual eliminación de las contaminaciones de laboratorio, puesto que los tubos con fragmentos amplificados ya no se vuelven a abrir para hacer ningún proceso adicional.

En el diagnóstico de la meningitis bacteriana, la PCR tiene mayor sensibilidad que la del cultivo tradicional, y la administración de antimicrobianos previa a la obtención de la muestra apenas afecta su sensibilidad. Esto es de gran utilidad en una enfermedad en la que la rapidez en la instauración del tratamiento es clave en la evolución posterior. La tercera gran ventaja es la rapidez en la obtención de resultados. Los principales inconvenientes de los métodos genómicos son la necesidad de personal específicamente entrenado, la falta de estandarización de los protocolos, el coste elevado y sobre todo, el peligro de que existan contaminaciones accidentales si se utiliza PCR convencional. El mejor formato de detección probablemente sea la combinación de sistemas automáticos de extracción de ácidos nucleicos con técnicas de amplificación en tiempo real. El futuro de las técnicas genómicas para el diagnóstico de estas infecciones pasa por el desarrollo de sistemas automatizados cerrados, con pocas posibilidades de contaminación y una elevada garantía de calidad. La detección de antígeno se realiza en pocos minutos y su simplicidad hace de ella una técnica al alcance de cualquier laboratorio de microbiología. La menor sensibilidad es su principal desventaja respecto a los otros métodos diagnósticos como son el cultivo y la detección de ácidos nucleicos. En el contexto de la meningitis neumocócica, las técnicas de inmunocromatografía validadas para detección de S. pneumoniae en otras muestras, pueden aportar buenos resultados cuando son empleadas en el LCR. La principal utilidad de la detección de antígeno se centra en el diagnóstico de los casos tratados cuando no se dispone de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, que actualmente constituyen el método diagnóstico de elección en estas situaciones.

Procesamiento de las muestras

Todas las manipulaciones de la muestra deben llevarse a cabo en una cabina de seguridad biológica. Si se tiene previsto realizar técnicas moleculares se separará una cantidad del LCR en un tubo estéril que se conservará refrigerado a 2-8ºC hasta su uso. La inoculación de los medios de cultivo seleccionados puede hacerse directamente con el LCR o bien tras su concentración por centrifugación. La centrifugación en citocentrífuga con 0,5-1 ml de LCR ofrece mayor sensibilidad que la convencional, aunque ésta puede realizarse en caso de no disponer de aquella. La centrifugación convencional se debe realizar con un mililitro del LCR durante 10 minutos a 2.000 g. Se aspirará el sobrenadante que se conservará para otros estudios y se resuspenderá el sedimento. Es importante tener en cuenta que el sedimento debe ser resuspendido mediante agitación suave en vórtex. No debe resuspenderse con una pipeta puesto que las bacterias y las células pueden quedarse adheridas a las paredes del tubo. Una gota del sedimento se empleará para la tinción de Gram y otra para la siembra en un medio de cultivo en caso que no se haya procedido previamente a la siembra directa.

Medios de cultivo e incubación

Debido al tipo de bacterias implicadas en la etiología de la meningitis, para el cultivo deben emplearse medios enriquecidos, como el agar sangre y el agar chocolate. Además, en función de los datos aportados por el médico peticionario sobre la muestra y el enfermo, se realizarán procedimientos adicionales si se consideran necesarios. Las placas se incubarán a 35º-37ºC en aire y en atmósfera enriquecida con 5% de CO2. En aquellos LCR con recuentos celulares muy elevados puede ser útil inocular un mililitro del mismo en una botella de hemocultivo que se introducirá en el sistema automatizado que disponga el laboratorio. Las placas serán revisadas diariamente, manteniéndose la incubación durante 3-4 días.

From:
http://www.neurocirugiacontemporanea.com/ - **Neurocirugía Contemporánea**
ISSN 1988-2661

Permanent link:
http://www.neurocirugiacontemporanea.com/doku.php?id=cultivo_de_lcr

Last update: **2019/09/26 22:15**