



COLEGIO DE BIOQUÍMICOS DE LA PROVINCIA DE SALTA

CURSO INTENSIVO DE ACTUALIZACIÓN EN DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Etapas preanalíticas, analítica y postanalítica en el estudio de materiales clínicos.
Criterios de jerarquización de aislamientos.

1. Fundamentación

El laboratorio de microbiología clínica ha dejado de ser un emisor pasivo de resultados para constituirse en un actor central en la toma de decisiones terapéuticas y en los programas institucionales de control de infecciones y de optimización del uso de antimicrobianos. En ese marco, la calidad del informe microbiológico depende tanto del desempeño técnico de la etapa analítica como de dos instancias frecuentemente subvaloradas: la etapa preanalítica, donde se define la representatividad de la muestra, y la etapa postanalítica, donde el profesional debe decidir qué aislamientos jerarquizar, cuáles informar y con qué alcance. La jerarquización de aislamientos constituye hoy una competencia crítica del bioquímico microbiólogo. Informar un colonizante como patógeno, o un contaminante como agente etiológico, deriva en tratamientos antibióticos innecesarios, presión de selección, prolongación de internaciones y costos evitables. A la inversa, la omisión de un aislamiento significativo compromete el pronóstico del paciente. Este curso propone recorrer, muestra por muestra, los criterios objetivos que sustentan esa decisión, integrándolos al flujo de trabajo real del laboratorio. La propuesta se enmarca en el PRODIM del Colegio de Bioquímicos de Salta y adopta una modalidad mixta: desarrollo teórico actualizado seguido de análisis de casos clínicos reales, con material de laboratorio auténtico (curvas de positividad, tinciones, placas de cultivo, recuentos e informes emitidos).

2. Destinatarios

Bioquímicos que se desempeñen en laboratorios de microbiología clínica del ámbito público y privado, profesionales en formación de posgrado o residencia en microbiología clínica, y técnicos de laboratorio con desempeño en el área. No se requieren conocimientos previos específicos más allá de la formación de grado, aunque se asume familiaridad con el trabajo cotidiano en el sector.

3. Objetivos

Objetivo General

Actualizar y estandarizar los criterios de trabajo en las tres etapas del proceso diagnóstico microbiológico, con foco en la jerarquización de aislamientos según el tipo de muestra y el contexto clínico del paciente.

Objetivos Específicos

- Reconocer los determinantes preanalíticos que condicionan la validez de cada material clínico y aplicar criterios fundamentados de aceptación y rechazo de muestras.
 - Actualizar los procedimientos analíticos vigentes, incluyendo metodologías rápidas y no dependientes de cultivo, y delimitar su alcance interpretativo.
-



- Aplicar criterios objetivos para distinguir contaminación, colonización e infección verdadera en cada tipo de muestra.
- Elaborar informes microbiológicos claros, jerarquizados y clínicamente útiles, incorporando estrategias de informe selectivo y escalonado.
- Integrar el resultado microbiológico al circuito de comunicación con el equipo tratante y con los programas PROA/PRODIM, incluyendo la alerta microbiológica temprana.
- Ejercitar la toma de decisiones postanalítica mediante el análisis de casos clínicos reales de complejidad creciente.

4. Metodología y modalidad

Seis encuentros de 90 minutos cada uno. Cada módulo se organiza sobre un eje temático definido por el tipo de muestra y combina exposición teórica con discusión de casos.

Momento	Duración	Descripción
Apertura y encuadre	10 min	Presentación del eje del módulo, del material clínico a analizar y de los puntos críticos de la etapa preanalítica.
Desarrollo teórico	45 min	Fase preanalítica, analítica y postanalítica del material en estudio, con énfasis en criterios de jerarquización de aislamientos.
Casos clínicos reales	25 min	Análisis interactivo de registros reales de laboratorio: curvas de positivización, tinciones, placas, recuentos e informes.
Discusión y cierre	10 min	Consenso de conducta postanalítica, redacción del informe y articulación con el equipo PROA/PRODIM.



- Modalidad: presencial / virtual sincrónica / mixta
- Los casos clínicos se presentan con material de laboratorio real, anonimizado conforme a la normativa vigente de protección de datos personales y secreto profesional.
- Se entregará material complementario en formato digital: algoritmos de trabajo, tablas de puntos de corte y modelos de informe para cada tipo de muestra.

5. Cronograma

Módulo	Modalidad	Fecha	Contenido temático
Módulo 1	Virtual sincrónica 19 – 20.30 hs	Martes 22 de septiembre	Infecciones del torrente sanguíneo y asociadas a catéteres (bacteriemias y BRC)
Módulo 2	Virtual sincrónico 19-20.30 hs	Viernes 25 de septiembre	Infecciones del tracto respiratorio alto y bajo
Módulo 3	Virtual sincrónico 19-20.30 hs	Martes 29 de septiembre	Infecciones del tracto urinario
Módulo 4	Virtual sincrónico 19-20.30 hs	Jueves 1 de octubre	Infecciones de piel, partes blandas y osteoarticulares
Módulo 5	Virtual sincrónico 19-20.30 hs	Lunes 5 de octubre	Infecciones del tracto genitourinario y gastroenteritis
Módulo 6	Presencial con transmisión sincrónica 10.30 – 14 hs	Sábado 10 de octubre	Infecciones del sistema nervioso central. Antibiógramas de todas las temáticas + taller integrador

Carga horaria total: 11 horas reloj (5 encuentros de 90 minutos y uno presencial de 3.5 hs).

6. Desarrollo de contenidos

Infecciones del torrente sanguíneo y asociadas a catéteres

Etapa preanalítica

- Relación crítica volumen de sangre/medio de cultivo (1:5 a 1:10): 8–10 mL por frasco en el adulto para optimizar la sensibilidad. Adecuación de volúmenes en pediatría.
- Impacto de la antisepsia de la piel sobre las tasas de contaminación: clorhexidina al 2 % en alcohol isopropílico frente a povidona yodada. Tiempos de secado.
- Estrategias de extracción: venopunción directa frente a retrocultivo por catéter venoso central (CVC). Número de sets y momento de la extracción.
- Muestreo pareado y temporizado para el cálculo del tiempo diferencial de positividad (TDP $\geq$ 120 minutos en sistemas automatizados).
- Conservación, temperatura de transporte y riesgos del enfriamiento prematuro o de la demora en la carga al equipo.

Etapa analítica e innovación tecnológica

- Sistemas automatizados de detección continua: curvas de producción de CO_2 por reflectometría o fluorometría e interpretación de sus patrones.
- Examen directo del frasco positivo: coloración de Gram y naranja de acridina en frascos de baja carga bacteriana.
- Identificación rápida directa desde el frasco: MALDI-TOF MS previa lisis/centrifugación o filtración; PCR multiplex y paneles sindrómicos aplicados al hemocultivo.
- Procesamiento de puntas de catéter: método semicuantitativo de Maki (punto de corte $\geq$ 15 UFC) frente a métodos cuantitativos por sonicación o agitación ($\geq 10^2$ UFC/mL).

Etapa postanalítica, jerarquización y articulación con PROA/PRODIM

- Algoritmos para diferenciar contaminación de infección verdadera: regla de múltiples frascos positivos, tiempo de positivización y comorbilidades del paciente.
 - Jerarquización de aislamientos: patógenos mayores (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*) frente a microbiota de piel (estafilococos coagulasa negativos, *Cutibacterium acnes*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp.).
-



- Reporte de alerta microbiológica temprana: comunicación del Gram directo dentro de la primera hora y canalización con el equipo PROA/PRODIM para desescalar o ajustar el esquema empírico.
- Análisis de casos clínicos reales
- Paciente hematooncológico con CVC y hemocultivos positivos para *Staphylococcus epidermidis* en 1 de 4 frascos frente al mismo hallazgo en 3 de 4 frascos: lectura comparada de curvas, TDP e informe resultante.
- Paciente en UCI con bacteriemia de foco endovascular por *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina (VRE): manejo del informe postanalítico, alerta epidemiológica y aislamiento de contacto.

Infecciones del tracto urinario

- Etapa preanalítica
- Criterios estandarizados de recolección según el perfil clínico: chorro medio con higiene previa (sin antisépticos), cateterismo vesical permanente o intermitente, punción suprapúbica y muestras de nefrostomía o talla vesical.
- Estabilidad de la muestra: refrigeración a 2–8 °C por un máximo de 24 horas frente al uso de tubos con ácido bórico como conservante.
- Criterios explícitos de rechazo: orina de bolsa colectora en el adulto, muestras no refrigeradas con más de 2 horas de demora, volumen insuficiente o identificación deficiente.

Etapa analítica y correlación clínico-microbiológica

- Citología e histoquímica urinaria: valor del urocitograma, leucocituria/piuria (cámara de Neubauer frente a tiras reactivas de esterasa leucocitaria y nitritos) y presencia de cilindros leucocitarios.
- Siembra cuantitativa con asa calibrada (1 µL y 10 µL) en medios selectivos y diferenciales: CLED, MacConkey y medios cromogénicos.
- Criterios de significación de los recuentos (10^2 , 10^3 , 10^4 y 10^5 UFC/mL) ajustados al método de obtención, sexo, sintomatología y estado de gestación.

Etapa postanalítica y criterios de jerarquización

- Abordaje de cultivos polimicrobianos: contaminación perineal o uretral frente a infección mixta verdadera en malformaciones anatómicas y vejiga neurogénica.
- Criterios de corte y decisión de no procesar o no jerarquizar en bacteriuria asintomática en poblaciones sin indicación, como herramienta para evitar el sobretratamiento antibiótico.
- Jerarquización en ITU complicada, urosepsis e ITU asociada a sonda vesical.
- Protocolos de informe selectivo de sensibilidad antimicrobiana según el ámbito de atención (ambulatorio frente a hospitalario).

Análisis de casos clínicos reales

- Embarazada asintomática con desarrollo de 10^4 UFC/mL de *Streptococcus agalactiae* o *Enterococcus faecalis*: definición de la conducta analítica y de la notificación al equipo tratante.
- Paciente añoso institucionalizado, con sonda vesical permanente y asintomático, con desarrollo de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC) $> 10^5$ UFC/mL acompañada de flora mixta.

Infecciones del tracto genitourinario y gastroenteritis

Infecciones genitales: etapas preanalítica y analítica

- Selección de hisopos (dacrón o alginato) y medios de transporte (Amies, Stuart). Técnica de toma endocervical, vaginal, uretral y rectal.
- Examen directo en fresco (formas móviles de *Trichomonas vaginalis*, levaduras y pseudomicelios) y coloración de Gram.
- Criterios cuantitativos de Nugent y de Hay-Ison para vaginosis bacteriana (*Gardnerella*, *Atopobium/Fannyhessea*, anaerobios). Diagnóstico de vaginitis por *Candida* spp. y de vaginitis citolítica.
- Algoritmos diagnósticos en ITS: cultivo de *Neisseria gonorrhoeae*, diagnóstico directo de *Chlamydia trachomatis* y estudio de *Mycoplasma/Ureaplasma* (cultivo frente a PCR multiplex).
- Protocolo normalizado de tamizaje de *Streptococcus agalactiae* (EGB) a las 35–37 semanas: enriquecimiento en caldo Todd-Hewitt o medio Granada previo al subcultivo.

Infecciones gastrointestinales: etapas preanalítica y analítica



- Recolección de materia fecal fresca frente a hisopado rectal en medio Cary-Blair. Criterios de selección según el tiempo de evolución y el ámbito de adquisición (diarrea comunitaria frente a intrahospitalaria o asociada a antibióticos).
- Examen directo: leucocitos fecales, moco y eritrocitos.
- Coprocultivo convencional en medios selectivos y diferenciales (SS, MacConkey, XLD, CIN para Yersinia, medios enriquecidos para Campylobacter en microaerofilia).
- Detección inmunocromatográfica o por ELISA de toxina Shiga (STEC) y de Clostridioides difficile (toxinas A/B y GDH). Paneles moleculares gastrointestinales integrados.

Etapas postanalíticas y criterios de jerarquización

- Distinción entre colonización comensal, portación asintomática e infección activa.
- Criterios para el informe del antibiograma en enteropatógenos: cuándo realizarlo y cuándo omitirlo según guías internacionales, con foco en la prevención del estado de portador y del síndrome urémico hemolítico.

Análisis de casos clínicos reales

- Embarazada con tamizaje positivo para EGB y presencia concomitante de Candida albicans o de bacilos gramnegativos: qué se informa y cómo se jerarquiza.
- Paciente pediátrico con diarrea disintérica, leucocitos fecales y aislamiento de E. coli O157:H7 / STEC: algoritmo de derivación y notificación obligatoria.

Infecciones de piel, partes blandas y osteoarticulares

Etapas preanalíticas

- Indicación y jerarquía de la muestra: biopsia quirúrgica de tejido, aspirado purulento con aguja fina y líquido articular, frente al rechazo fundamentado del hisopado de superficie en heridas abiertas, úlceras y fístulas.
- Métodos de transporte diferenciados para bacterias aerobias y anaerobias estrictas. Número y sitio de las tomas en infección de prótesis articular.

Etapas analíticas e imputación microbiológica

- Procesamiento físico de la muestra: homogeneización de tejidos y centrifugación de líquidos.
-



- Microscopía directa de urgencia: coloración de Gram, recuento de leucocitos polimorfonucleares y valor de los morfotipos predominantemente intracelulares.
- Cultivo en medios enriquecidos (agar sangre, agar chocolate, agar para anaerobios) y caldos de enriquecimiento (tioglicolato).
- Incubación prolongada para microorganismos de crecimiento lento: *Cutibacterium*, *Actinomyces*, micobacterias y hongos.

Etapa postanalítica y criterios de jerarquización

- Distinción entre contaminante de piel, colonizante superficial, infección monomicrobiana aguda (por ejemplo, artritis séptica por *S. aureus*) e infección polimicrobiana crónica compleja (pie diabético, úlcera por presión).
- Interpretación de la significancia de los anaerobios y de los bacilos gramnegativos no fermentadores.
- Estrategias de informe dirigido y escalonado (cascade reporting) en aislamientos de tejidos profundos.

Análisis de casos clínicos reales

- Biopsia ósea y de tejido blando de pie diabético con desarrollo de cuatro microorganismos (*S. aureus* meticilino resistente, *P. aeruginosa*, *Enterococcus* spp. y anaerobios): criterios para decidir qué aislamientos se prueban y cuáles se informan.
- Líquido articular de paciente con prótesis de cadera, Gram con cocos grampositivos y desarrollo tardío de *Staphylococcus lugdunensis*.

Infecciones del sistema nervioso central

Etapa preanalítica de máxima urgencia

- El líquido cefalorraquídeo como muestra crítica e irremplazable. Protocolo de fraccionamiento en tubos (citoquímico, microbiología, biología molecular y serología) y orden de prioridad ante volúmenes escasos (< 1 mL).
- Prohibición absoluta de la refrigeración cuando se investigan bacterias lábiles (*N. meningitidis*, *H. influenzae*). Tiempos máximos de procesamiento.

Etapa analítica: rapidez y alta sensibilidad



- Citomicroscopía en cámara de recuento y estudio físico-químico de urgencia: proteinorraquia, glucorraquia y correlación con la glucemia periférica.
- Coloración de Gram sobre muestra concentrada (centrifugado o citocentrifugado) y tinta china/nigrosina para *Cryptococcus* spp.
- Detección de antígenos capsulares por aglutinación de látex y valor actual de los paneles moleculares multiplex directos de LCR: sensibilidad, especificidad e interpretación de falsos positivos y negativos.

Etapa postanalítica, perfiles etiológicos y jerarquización

- Patrones licorales característicos: bacteriano purulento, viral de líquido claro con predominio linfocítico, fúngico y tuberculoso.
- Jerarquización según el tipo de paciente (neonato, adulto, inmunocomprometido) y la presencia de dispositivos biomédicos (derivación ventricular externa o interna).
- Evaluación de contaminantes de piel (*S. epidermidis*, *C. acnes*) frente a verdadera infección de la prótesis del SNC.

Análisis de casos clínicos reales

- LCR de paciente adulto con pleocitosis neutrofílica severa, hipogluorraquia y panel molecular positivo para *Neisseria meningitidis* o *Streptococcus pneumoniae*: flujo de notificación inmediata y conducta postanalítica.
- LCR obtenido por punción de válvula de derivación ventricular, con cocos grampositivos en racimos en la tinción directa pero sin pleocitosis marcada.

Infecciones del tracto respiratorio alto y bajo

Etapa preanalítica y control de calidad de la muestra

- Evaluación estricta de la representatividad del esputo: examen microscópico previo a la siembra con tinción de Gram e índices de calidad (escala de Murray-Washington y criterios de Bartlett, según el recuento de células epiteliales planas y de leucocitos PMN por campo de bajo aumento).
- Muestras invasivas profundas: aspirado endotraqueal (AET), lavado broncoalveolar (BAL) y mini-BAL. Condiciones de transporte y tiempos de procesamiento.

Etapa analítica cuantitativa y diagnóstico etiológico

- Cultivo semicuantitativo del esputo aceptable y cultivo cuantitativo por diluciones seriadas en muestras invasivas: puntos de corte $\geq 10^6$ UFC/mL para AET y $\geq 10^4$ UFC/mL para BAL.
 - Particularidades del diagnóstico de otitis y sinusitis.
-



- Pruebas no dependientes de cultivo: antígenos urinarios para *Legionella pneumophila* y *Streptococcus pneumoniae*; paneles moleculares respiratorios para patógenos atípicos (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Bordetella pertussis*) y virus respiratorios.

Etapa postanalítica y jerarquización en muestras complejas

- Criterios para distinguir el comensalismo orofaríngeo (estreptococos del grupo viridans, *Neisseria* spp. comensales, *Candida* spp.) de los verdaderos patógenos respiratorios (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, enterobacterias).
- Interpretación y no jerarquización sistemática de *Candida* spp. en secreciones respiratorias: reconocimiento del estado de colonización.

Análisis de casos clínicos reales

- Paciente en asistencia respiratoria mecánica en UCI, con BAL que desarrolla 10^5 UFC/mL de *Candida albicans* y 10^4 UFC/mL de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente.
- Paciente ambulatorio con neumonía aguda de la comunidad cuyo esputo presenta baja calidad preanalítica (alto recuento de células epiteliales) con aislamiento abundante de *Staphylococcus aureus*.

7. Evaluación y certificación

Se propone la siguiente modalidad, sujeta a la reglamentación de certificación del Colegio de Bioquímicos de Salta:

- Asistencia mínima al 80 % de los encuentros (5 de 6 encuentros).
- Participación en la discusión de casos clínicos de cada módulo.
- Evaluación final integradora de opción múltiple con resolución de casos breves, sobre criterios de jerarquización e informe, aprobable con el 70 % de respuestas correctas.
- Certificación diferenciada de asistencia y de aprobación, según corresponda.

8. Recursos necesarios

- Sala con capacidad para 40 asistentes, proyector y sistema de audio; o plataforma de videoconferencia con capacidad de grabación, en caso de dictado virtual.
- Conectividad estable para la proyección de imágenes de microscopía, placas y registros de equipos automatizados en alta resolución.
- Repositorio digital para la distribución del material complementario a los inscriptos.

9. Bibliografía de referencia

El desarrollo de los contenidos se apoya en documentos normativos y guías de referencia vigentes, entre ellos:



- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Documento M100, en su edición vigente, y documentos específicos por tipo de muestra.
- Guía de la Infectious Diseases Society of America y la American Society for Microbiology para la utilización del laboratorio de microbiología en el diagnóstico de enfermedades infecciosas.
- Manual of Clinical Microbiology, American Society for Microbiology, en su edición vigente.
- Procedimientos y recomendaciones de la Subcomisión de Antimicrobianos (SADEBAC) de la Asociación Argentina de Microbiología.
- Guías y documentos de posición de ESCMID y de la Organización Mundial de la Salud aplicables a cada síndrome clínico abordado. El listado bibliográfico definitivo, con ediciones y años, se incorporará en la versión final del programa.