

LABORATORIO MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

**MANUAL DE RECOGIDA, TRANSPORTE Y
CONSERVACIÓN DE MUESTRAS**

**6º edición
2022**

Servicio de Microbiología

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Autores:

Caridad Sáinz de Baranda Camino

Joaquín Bartolomé Álvarez

Joaquín Blas Señalada

Rafael Carranza González

Elena Escribano Garaizábal

Julia Lozano Serra

Trinidad Parras Padilla

Eva Riquelme Bravo

Purificación Robles Domínguez

M^a Encarnación Simarro Córdoba

Año 2022

INDICE

1.- Introducción y objetivos

2.- Normas básicas generales

3.- Hemocultivo

4.- Urocultivos

5.- Tracto gastrointestinal

5.1. Heces

5.2. Hisopos rectales

5.3. Muestras digestivas altas

5.4. Muestras digestivas bajas

6.- Tracto respiratorio

6.1. Tracto respiratorio superior

6.1.1. Exudado Faringo-amigdalal

6.1.2. Exudado nasofaríngeo

6.1.3. Exudado nasal

6.1.4. Exudado sinusal

6.1.5. Exudado cavidad oral

6.2. Tracto respiratorio inferior

6.2.1. Esputo espontáneo, Esputo inducido

6.2.2. Aspirado endobronquial

6.2.3. Muestras obtenidas a través de fibrobroncoscopia: BAS, BAL, Cepillado bronquial, Biopsia transbronquial

6.2.4. Líquido pleural

6.2.5. Biopsia pulmonar

7.- Líquido cefalorraquídeo

8.- Líquidos orgánicos

9.- Tracto genital

9.1. Muestras del tracto genital femenino

9.1.1. Exudados vaginales

9.1.2. Exudados endocervicales

9.1.3. Exudados uretrales

9.1.4. Exudados rectales

9.1.5. Exudados vagino-rectales

9.1.6. Endometrio

9.1.7. Culdocentesis

9.1.8. Trompas y ovarios

9.1.9. Vulva

9.1.10. Lesiones cutáneo mucosas para campo oscuro (chancros)

9.1.11. Ganglios linfáticos inguinales

9.1.12 Líquido amniótico

9.1.13 Restos placentarios

9.1.14 Úlceras genitales

9.2. Muestras del tracto genital masculino

9.2.1. Exudados uretrales

9.2.2. Orina para estudio de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*

9.2.3. Exudados rectales

9.2.4. Ganglios linfáticos inguinales

9.2.5. Lesiones cutáneo mucosas para campo oscuro (chancros)

9.2.6. Muestras para estudio de prostatitis

9.2.7. Úlceras genitales

9.3. Muestras para estudio de Chlamydia y micoplasmas

9.3.1. Muestras para el estudio de *Chlamydia trachomatis*.

9.3.2. Muestras para estudio de micoplasmas

10.- Exudados oculares

11.- Exudados óticos

11.1. Oído externo

11.2. Oído medio

12.- Piel y tejidos blandos

12.1. Úlceras y heridas abiertas

12.2. Abscesos cerrados

12.3. Celulitis

12.4. Pústulas o vesículas

13.- Catéteres y drenajes

14.- Biopsias/Tejidos

15.- Necropsias

16.- Médula ósea

17.- Estudio de microorganismos especiales

17.1. Anaerobios

17.2. Micobacterias

17.3. Hongos (Dermatofitos y P. jirovecii)

17.4. Parásitos

18.- Serología microbiana

19.-Muestras para estudio de vigilancia epidemiológica de bacterias multirresistentes

20.- Muestras para control microbiológico ambiental, de productos hematológicos y de nutrición parenteral

21.- Muestras para detección de la carga viral de Citomegalovirus (CMV) y Virus BK

1.- INTRODUCCION Y OBJETIVOS

El diagnóstico microbiológico que el laboratorio puede proporcionar, depende de la calidad de la muestra recibida. Una toma mal realizada, pobremente recogida o mal transportada determinará un posible fallo en la recuperación de los agentes patógenos, pudiendo inducir a errores diagnósticos e incluso a un tratamiento inadecuado del enfermo.

El objetivo de este manual es realizar una puesta al día de la recogida, transporte y conservación de las muestras microbiológicas, según las distintas localizaciones, las características especiales de las muestras o de los microorganismos a estudiar.

2. NORMAS BASICAS GENERALES

2.1. Volante de petición

Cada muestra deberá ir acompañada de un volante de petición que deberá estar correcta, legible y completamente cumplimentado. En general, cada petición debería suministrar al laboratorio la suficiente información para que la muestra sea procesada convenientemente y puedan interpretarse adecuadamente los resultados.

Todo volante de petición deberá poseer las cinco áreas siguientes:

1. Filiación y datos administrativos: nombre y apellidos, sexo y edad del paciente, médico solicitante, centro, servicio o consulta al que pertenezca, número de cama, número de la seguridad social, número de historia clínica, etc.
2. Datos clínicos: fecha de comienzo de la enfermedad, diagnóstico de presunción, estado inmunitario del paciente, etc. Estos datos son de gran interés para orientar las técnicas que hay que seguir.
3. Datos de la muestra: fecha y hora de obtención, naturaleza del producto y exacta localización de la toma, así como el procedimiento de extracción, o si se ha seguido alguna técnica especial (punción transtraqueal, vesical, etc.).
4. Terapéutica seguida: antibióticos, que se han administrado y el tiempo desde la última toma o inyección. Todas las muestras deberían tomarse antes de empezar un tratamiento antibiótico.
5. Área para la solicitud: indicando claramente el tipo o tipos de determinaciones que se desean; en caso de búsqueda de un microorganismo determinado, se indicará éste (*M. tuberculosis*, *L. pneumophila*, etc.).

2.2. Obtención de la muestra

En líneas generales, para cualquier localización es necesario:

1. Que la toma se efectúe en el sitio exacto de la lesión con las máximas condiciones de asepsia que eviten la contaminación con microbios exógenos.
2. Que la muestra nunca se ponga en contacto con antisépticos o desinfectantes.
3. Que la toma sea lo más precoz posible.
4. Son preferibles los productos purulentos frescos líquidos (recogidos con aspiración directa con jeringa) o tejidos sospechosos, a las muestras tomadas con hisopos o torundas con algodón.
5. Se tomarán cantidades adecuadas.
6. Las muestras deben recogerse antes de la instauración del tratamiento antibiótico; cuando esto no es posible, se obtendrán justo antes de la administración de la dosis del antimicrobiano o tras 48 horas de la retirada del mismo.

2.3. Recogida de la muestra

Cada tipo de muestra requiere un material estéril para recogida e incluso transporte de la misma.

2.4. Transporte

TODAS las muestras deben enviarse rápidamente al laboratorio para que sean procesadas antes de las dos primeras horas desde su recogida. Esta situación es crítica en el caso de los LCR en meningitis agudas.

La mayoría de las bacterias resisten bien las temperaturas bajas, por lo que las muestras pueden mantenerse unas horas en refrigeración (2-8°C), Excepto LCR y Hemocultivos que deben permanecer a T^a ambiente.

En todos los casos los contenedores de las muestras deben estar perfectamente cerrados e identificados con los datos de la muestra, del paciente, servicio solicitante y receptor.

Cuando la viabilidad de las bacterias es baja o hay posibilidad de desecación de la muestra, se usarán medios de transporte. Estos medios pueden ser para bacterias aerobias o anaerobias, y aunque pueden conseguir supervivencias de hasta 24 horas a temperatura ambiente, deben enviarse también lo más rápidamente posible al laboratorio.

3. HEMOCULTIVOS

EXTRACCIÓN DE SANGRE PARA HEMOCULTIVOS

Material necesario

Reunir todo el material necesario antes de iniciar el procedimiento:

- Frascos de hemocultivos (aerobio y anaerobio)
- Compresor de goma
- Jeringas y agujas de punción IV
- Gasas estériles
- Guantes estériles y no estériles
- Mascarilla
- Paño estéril
- Alcohol isopropílico al 70%
- Clorhexidina alcohólica (clorhexidina al 2% en alcohol isopropílico al 70%)

Instrucciones para la toma de hemocultivos

1.1. Preparación del personal:

Realizar **lavado** de **manos** con agua y jabón. Utilizar **guantes limpios**. No es necesario que sean estériles.

1.2. Preparación de los frascos:

1. Levantar la lengüeta de los frascos y **desinfectar** los **tapones** de goma con **alcohol étílico** o **isopropílico** al 70%, o **clorhexidina alcohólica**. Dejar secar al menos **30 seg**
2. Eliminar cualquier gota de desinfectante residual del tapón con una gasa estéril antes de la inoculación de la sangre si fuese necesario.

1.3. Preparación de la piel del paciente:

1. Aplicar un torniquete. **Localizar** por palpación la vena que se va a puncionar. Debe utilizarse **una vena distinta** para cada extracción. Cuando no haya venas accesibles puede realizarse la extracción de sangre arterial.
2. Aplicar frotando **clorhexidina alcohólica** y dejar secar al menos **30 seg**, **respetando el tiempo** de secado.

Con una técnica aséptica correcta, el número de hemocultivos contaminados obtenidos por venopunción no debe exceder del 3%.

1.4. Extracción de la sangre:

1. Quitar los guantes, **higienizar** las **manos** con **solución alcohólica** y vestir los guantes **estériles**. Crear campo estéril.
2. **Extraer** la sangre de **forma aséptica** sin tocar el campo desinfectado, **evitando hablar** y **toser** sobre el mismo o utilizando **mascarillas**.
3. Usar **una aguja** para cada venopunción.
4. No debe ponerse material no estéril sobre la aguja al sacarla de la vena. Utilizar para ello una gasa estéril.

1.5. Inoculación de los frascos y transporte:

1. **Inocular** los frascos **rápidamente** para evitar la coagulación de la sangre, en posición vertical, comenzando por el frasco **anaerobio**.
2. **Invertir** varias veces los frascos para que la sangre se mezcle con el medio de cultivo.
3. **Identificar** debidamente los frascos y enviarlos lo **antes posible** al laboratorio (máximo 18 h en casos justificados). Hasta su envío, mantener los hemocultivos a **temperatura ambiente**. Nunca deben refrigerarse. **No cubrir** los **códigos de barras** de los frascos.

1.6. Número de hemocultivos y volumen de sangre.

- Un **hemocultivo** se define como un volumen de sangre obtenido asépticamente, preferiblemente mediante venopunción, inoculado en una o más botellas con caldo de cultivo.
- En general se extraerán **2 hemocultivos** el mismo día con un **intervalo** de **30 minutos a dos horas**, o **simultáneamente** de lugares de **venopunción diferentes**, lo **antes posible** tras la aparición de los síntomas y **antes** de iniciar tratamiento antibiótico.
- En **cada hemocultivo** o extracción se inoculan **dos frascos**: uno aerobio (tapón verde) y otro anaerobio (tapón naranja).
- Volumen de sangre: en **cada hemocultivo** se extraerán en general de **10 a 20 ml** de sangre (**5 a 10 ml** por frasco).

- En **endocarditis**, otras infecciones intravasculares y otros casos de bacteriemia **continua**, pueden extraerse un máximo de **3 hemocultivos** repartidos en **24 h** con el **volumen máximo**.

1.7. Método de “Diferencia de tiempos para positividad” (DTP)

- Los hemocultivos obtenidos a través de **catéter** se **contaminan** más que los obtenidos por venopunción a través de piel correctamente desinfectada. Este método de obtención de hemocultivos debería utilizarse sólo en caso de sospecha de bacteriemia relacionada con el catéter para aplicación en el laboratorio del método de DTP. Las condiciones de aplicación del método son las siguientes:
 - Se extraerán al menos **dos hemocultivos**: uno a través del **catéter** (uno por cada luz) y otro de **sangre periférica** mediante venopunción.
 - Los hemocultivos deben ser extraídos al **MISMO TIEMPO**, inoculados con el **MISMO VOLUMEN** de sangre y enviados **INMEDIATAMENTE** al laboratorio, donde serán incubados al mismo tiempo.
 - El **volante de petición** debe reflejar de forma clara el modo de obtención de cada muestra (**catéter o sangre periférica, tipo de luz**).



Observaciones:

- Indicar claramente en la petición la sospecha de *Brucella* o endocarditis.
- Contactar con el laboratorio de Microbiología ante la sospecha de bacteriemia por microorganismos “**inusuales**” o de “**difícil crecimiento**”

4. UROCULTIVOS

A. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Las técnicas de obtención de muestras de orina, salvo la punción suprapúbica, no permiten excluir totalmente la contaminación con bacterias de la uretra distal, lo que puede dar lugar a interpretaciones equívocas de los resultados.



A,1 Obtención de muestras de orina de micción media

La orina de micción media o micción espontánea es la muestra más frecuentemente obtenida para diagnóstico microbiológico. Aunque su obtención es fácil, exige una recogida cuidadosa para evitar la contaminación, especialmente en mujeres. Tradicionalmente se ha recomendado el lavado exhaustivo del área genital y perineal antes de la obtención de la muestra. Aunque el punto realmente importante es la obtención de la muestra sin que la orina tenga contacto con los genitales externos. En este sentido, es fundamental instruir a las pacientes sobre la importancia de mantener separados los labios mayores durante la micción.

En varones es menos frecuente la contaminación y para una recogida correcta basta generalmente con retraer la piel del prepucio.

Para reducir la contaminación de la orina con bacterias de la microbiota uretral, la primera parte de la micción, más contaminada, debe descartarse recogiendo la micción media en un contenedor estéril. Deben emplearse **contenedores de boca ancha** que facilitan la recogida. Si el transporte al laboratorio se demora más de 2 horas debe utilizarse **contenedor con conservante** (ac. bórico).

La concentración de bacterias es mayor en la primera orina de la mañana y aunque no es imprescindible, es el momento óptimo para obtener muestras para cultivo.

A,2. Obtención de muestras de orina por sondaje vesical

La muestra de orina para cultivo puede también obtenerse directamente de la vejiga por sondaje vesical, evitando la posible contaminación con la microbiota uretral. Sin embargo, con el sondaje vesical es posible la introducción de microorganismos en la vejiga produciendo una ITU iatrogénica. El sondaje sólo se considera indicado cuando no es posible obtener muestra por micción media, como es el caso de pacientes inmovilizados, obesos, con alteraciones neurológicas y en niños sin control de esfínteres.

A,3. Obtención de muestras de orina en pacientes con sondaje permanente

- La recogida de orina requiere pinzar la sonda para poder obtener orina recién emitida. Después de pinzar la sonda es necesario desinfectar, con una gasa humedecida en alcohol o con solución de clorhexidina, la superficie de la sonda donde se va a hacer la punción. Transcurrido el tiempo necesario para la actuación del desinfectante, se punciona con aguja y jeringa estéril en la zona desinfectada para aspirar la muestra. Deben obtenerse entre **5 y 10 mL de orina y transferirlos a un contenedor estéril para su transporte**. Algunas sondas tienen un dispositivo específico para obtener muestras; en este caso, para obtener orina recién emitida, debe pinzarse la sonda y después abrir el dispositivo para eliminar la orina acumulada. Al cabo de 40-60 minutos puede retirarse la pinza y obtener la muestra volviendo a abrir el dispositivo.

Nunca debe obtenerse muestra de la bolsa colectora; tampoco, se debe desconectar la sonda de la bolsa para la recogida de la muestra, ya que la apertura del sistema aumenta el riesgo de infección.

- Si la sonda ha permanecido puesta más de 2 semanas debe cambiarse y se debe obtener para cultivo la primera orina que fluye a través de la nueva sonda, si procede. Las muestras obtenidas a través de sondas puestas por un periodo prolongado de tiempo (≥ 2 semanas) están contaminadas con bacterias de la biopelícula por lo que en la orina se encuentran un mayor número de bacterias y en mayores recuentos comparado con la orina obtenida a través de la nueva sonda.

- La punta de la sonda no es una muestra adecuada para diagnóstico de ITU y no debe procesarse.

A4. Obtención de muestras de orina en niños mediante bolsas colectoras

Las bolsas colectoras se aplican con un adhesivo después de lavar el área perineal y genital. Sin embargo, es muy frecuente la contaminación y aun aplicándolas correctamente sólo se obtienen

resultados valorables en el 50-60% de los casos. Cuando la micción no se produce en una hora es necesario repetir el lavado y colocar una nueva bolsa. Una vez recogida la orina, la bolsa cerrada debe introducirse en un contenedor estéril de boca ancha y cierre a rosca. También, se puede verter el contenido de la bolsa a un contenedor estéril, evitando que la orina entre en contacto con la zona de la bolsa que ha estado adherida a la piel.

A5. Obtención de muestra de orina por punción suprapúbica

La punción-aspiración suprapúbica permite obtener orina directamente de la vejiga a través de la pared vesical y es la técnica de elección en pacientes en los que no es posible obtener orina libre de contaminantes. Resulta especialmente útil y fácil de realizar en niños y suele realizarse bajo control ecográfico. Estas muestras están exentas de contaminación y cualquier hallazgo microbiológico debe considerarse significativo. Es la única muestra válida para el cultivo de bacterias anaerobias en el caso de sospecha clínica.

A6. Obtención de muestras de orina de nefrostomía

La nefrostomía permite el drenaje de orina directamente del riñón al exterior a través de un catéter introducido en la pelvis renal que drena a una bolsa colectora.

En pacientes que tienen ya una nefrostomía, cuando existe sospecha de infección, debe cambiarse el catéter y obtener la muestra de orina por aspiración desde el nuevo catéter.

En ocasiones no se sustituye el catéter y la orina se obtiene por aspiración, después de retirar la bolsa y desinfectar la zona del estoma; en este caso, los resultados obtenidos del procesamiento de la muestra son de muy dudoso valor.

B. VOLUMEN MÍNIMO DE LA MUESTRA SEGÚN EL ESTUDIO SOLICITADO

Determinación	Volumen orina	Comentario
Urocultivo	5-10 mL	Contenedor con conservante para el transporte. Se puede usar contenedor sin conservante si el transporte se demora $\leq 2h$. La muestra óptima es la primera orina de la mañana. Se puede conservar refrigerada ($2-8^{\circ}C$) $\leq 24h$ antes de su procesamiento.
Cultivo de micobacterias	20-40 mL (x3)	Contenedor sin conservante. Obtener 3 muestras en 3 días consecutivos (20-40 mL de orina por muestra). La muestra óptima es la primera orina

Anaerobios	5-10 mL	de la mañana. Se puede conservar refrigerada (2-8°C) ≤ 24h antes de su procesamiento. Sólo en orina de punción suprapúbica. Contenedor específico para anaerobios.
Detección de antígenos	5-10 mL	Antígenos de Legionella y neumococo. Contenedor estéril con o sin conservante. Se puede conservar a temperatura ambiente ≤24h o refrigerada (2-8°C) hasta 14 días. Alternativamente las muestras se pueden congelar (-20°C).
Parásitos (esquistosomiasis)	100 mL Orina 24h	Recoger la muestra de orina después de mediodía (entre las 12h y las 15h) o recoger orina de 24h. Es recomendable realizar ejercicio previo a la recogida de muestra para aumentar la eliminación de huevos. Contenedor estéril sin conservante o contenedor orina 24h.
Virus (CMV, BK, adenovirus, etc.)	5-10 mL	Indicado en recién nacidos (CMV), trasplantados (BK), cistitis hemorrágica niños (adenovirus), o como muestra adicional para el diagnóstico por biología molecular de infecciones víricas sistémicas. Contenedor estéril sin conservante o con medio de transporte de virus. La muestra se conserva refrigerada (2-8°C) antes de su procesamiento.
Detección de leptospiras	5-10 mL	Sólo es válida la orina recién emitida para observación en campo oscuro. Contenedor sin conservante. Las leptospiras son sensibles a la acidez de la orina, por lo tanto, el cultivo debe realizarse durante las primeras 2 horas después de su recogida

C. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

- **Transporte inmediato al laboratorio (inferior a 2 horas). Si el transporte o procesamiento no pueden realizarse inmediatamente es necesario refrigerar las muestras entre 2-8°C < 24 horas.**
- El método de recogida más utilizado para evitar el sobrecrecimiento bacteriano es el empleo de contenedores que contienen antisépticos débiles como el ácido bórico-formiato de sodio. Existen unos sistemas de recogida de orina comercializados que incluyen un contenedor estéril de boca ancha donde se recoge la muestra y en los que la tapa del contenedor lleva un dispositivo que permite llenar un tubo de vacío con el conservante. Aunque el volumen adecuado son 5-10 ml, **deben recogerse al menos 3 mL de orina** para evitar el efecto inhibitorio del conservante.
- Los contenedores con conservante no son válidos para cultivo de micobacterias ni para la detección de virus o parásitos.

5. TRACTO GASTROINTESTINAL

5.1. HECES



A.- Material necesario

- Recipiente de boca ancha para recoger las heces, tipo orinal, bacinilla o cuña. No es necesario que esté estéril, sólo es preciso que esté limpio. No contendrá restos de jabones, detergentes, desinfectantes o iones metálicos.
- Tubo fecal swab para conservar y trasportar la muestra.
- Torunda incluida en el tubo fecal swab para trasvasar la muestra desde el recipiente de recogida.

B.- Obtención de la muestra

- Se toma una porción del recipiente donde hayan sido emitidas y se transfieren al tubo fecal swab para el envío al laboratorio. Se deben seleccionar aquellas zonas donde haya sangre, moco o pus.
- No son válidas las muestras contaminadas con orina. **No debe utilizarse para la recogida papel higiénico** porque suele contener sales de bario que inhiben algunas bacterias enteropatógenas.

C.- Volumen mínimo

- **Heces formadas o pastosas:** para cultivo 1-2 g; para detección de rotavirus/adenovirus añadir de 2 a 4 g más (muestras del tamaño de una nuez son adecuadas pues permiten realizar todos los estudios necesarios).
- **Heces líquidas:** entre 5 y 10 ml.

NOTA: NO se procesarán heces duras y secas que no se adapten a la forma del contenedor.

D.- Transporte y conservación

- **Para coprocultivo, detección de virus y el estudio de *C. difficile* toxigénico:** enviar la muestra en el tubo fecal swab con un volante que puede incluir esas peticiones. Si no se va a procesar en 1-2 horas se debe mantener la muestra refrigerada hasta un máximo de 24 horas.

- **Para la determinación de antígeno de *Helicobacter pylori*:** enviar la muestra en un fecal swab con un volante que incluya esa única petición. La muestra se puede mantener hasta 48 horas en refrigeración.
- **Para el estudio de parásitos:** se requiere una sola muestra remitida en el tubo fecal swab y acompañada de un volante con únicamente esa petición. (No se admitirán volantes con peticiones asociadas de cualquiera de los dos epígrafes anteriores). La muestra se puede mantener hasta 48 horas en refrigeración.

E.- Observaciones

- Las muestras para coprocultivo deberán tomarse preferiblemente antes de la administración de antimicrobianos o agentes antidiarreicos.
- Indicar la orientación diagnóstica, así como los datos de edad, estado inmunitario u otros datos de interés del paciente.
- El estudio de **virus en heces** sólo se realiza de forma habitual en niños menores de 5 años.
- **La determinación de *Clostridium difficile*** se realiza sólo en la primera muestra de heces no formes con sospecha diagnóstica de infección y una vez resuelta la diarrea si hubiera recurrencia.

F.- Muestras inadecuadas

- **Heces remitidas en torunda** (sólo serán aceptadas en casos muy seleccionados de pacientes neonatos y adultos debilitados ante la imposibilidad de recoger una muestra óptima). Introducir la torunda de recogida de la muestra en el tubo fecal swab.
- **Muestras remitidas en exceso:** el tubo fecal swab lleva un indicador de cantidad.
- **Heces emitidas anteriores a dos horas y que no hayan sido refrigeradas.**
- **Varias muestras recogidas el mismo día.** No procede realizar estos estudios (coprocultivo, detección de virus, *C. difficile* toxigénico, antígeno de *H. pylori* o parásitos) en muestras seriadas.

5.2. HISOPOS RECTALES

A.- Material necesario

- Hisopos rectales con medio de transporte Stuart-Amies.
- Guantes.



B.- Obtención de la muestra

- **En general no son muestras adecuadas para la búsqueda de enteropatógenos, aunque en ocasiones hay que recurrir a ellas si no se puede disponer de heces, como en neonatos o adultos debilitados. No son muestras válidas para la búsqueda de antígenos (virus, *C. difficile*).**
- **Son muestras aptas para realizar estudios de colonización (ver apartado nº 20).**
- Para realizar la toma se introduce el hisopo sobrepasando un poco el esfínter anal y se rota para hacer la toma de las criptas anales, dejar 10 a 30 segundos para que se absorban los microorganismos y retirar.

C.- Transporte y conservación

- **Hisopos sin medio de transporte:** sólo serán aptos cuando el procesamiento se vaya a realizar sin demora tras la toma.
- **Hisopos con medio de transporte Stuart-Amies:** se pueden conservar hasta 24 horas a temperatura ambiente.

E.- Muestras inadecuadas

- **Hisopos rectales sin medio de transporte remitidas más de 2 horas después de la toma.**
- **Hisopos con heces cuando se soliciten estudios de colonización.**

5.3. MUESTRAS DIGESTIVAS ALTAS

5.3.1. ASPIRADO GÁSTRICO Y DUODENAL

A.- Material necesario

- Tubo de lavado gástrico.
- Recipientes estériles de boca ancha, tubo de tapón de rosca, tubo de vacío.
- Contenedor especial con líquido conservante para parásitos.



B.- Obtención de la muestra

- **Aspirado gástrico:** (ver toma de muestra para estudio de micobacterias).
- **Aspirado duodenal:** para la búsqueda de *Giardia intestinalis*, *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*. Introducir el tubo a través de la boca hasta alcanzar el duodeno y aspirar (para la búsqueda de *G. intestinalis* es necesario llegar a la tercera porción del duodeno). Como método alternativo, existe la posibilidad de la cápsula duodenal.
- El **cultivo bacteriológico del aspirado duodenal** sólo tiene interés para detección de sobrecrecimiento bacteriano.

C.- Volumen mínimo

- De 0.5 a 3ml en el aspirado duodenal.

D.- Transporte y conservación

- En un recipiente estéril de boca ancha, tubo de vacío o tubo de tapón de rosca, si se envía y procesa rápidamente.
- Si hay demora en el transporte o procesamiento, se deberá enviar en un contenedor con líquido conservante para parásitos.
- Mantener las muestras a temperatura ambiente.

6. TRACTO RESPIRATORIO

6.1. TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

- 6.1.1. Exudado faringo-amigdalor
- 6.1.2. Exudado nasofaríngeo
- 6.1.3. Exudado nasal
- 6.1.4. Exudado sinusal
- 6.1.5. Exudado cavidad oral

6.2. TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

- 6.2.1. Esputo espontáneo, Esputo inducido
- 6.2.2. Aspirado endobronquial
- 6.2.3. Muestras obtenidas a través de fibrobroncoscopia: BAS, BAL, Cepillado bronquial, Biopsia transbronquial
- 6.2.4. Líquido pleural
- 6.2.5. Biopsia pulmonar

6.1. TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

6.1.1. EXUDADO FARINGO-AMIGDALAR

- Se investigará rutinariamente la presencia de *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo A (*S. pyogenes*), otros Estreptococos beta-hemolíticos patógenos y *Arcanobacterium haemolyticum*.
- Esta muestra también podrá utilizarse para la detección de *Neisseria gonorrhoeae*.

A.- Material necesario

- Depresor lingual.
- Torunda de Dacron o alginato calcico con y sin medio de transporte de Stuart-Amies.

B.- Obtención de la muestra

- Bajo visión directa, con la ayuda de un depresor lingual, se tocará con una torunda en todas las partes con exudado, membranas o inflamación. Se deben frotar las criptas tonsilares y la faringe posterior. No tocar nunca la mucosa oral, lengua o úvula.
- No realizar la toma si la epiglotitis esta inflamada.



C.- Numero de muestras

- **Cultivo:** una torunda CON medio de transporte.

- **Detección de Antígeno de *S. pyogenes***: una torunda SIN medio de transporte.
- **Cultivo + Detección de Antígeno *S. pyogenes***: se recomienda el envío de dos torundas, una de ellas sin medio de transporte.

D.- Transporte y conservación

- No requieren medidas especiales para su transporte y conservación: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

E.- Observaciones

- Ante la sospecha de difteria, contactar antes de la toma de la muestra con el laboratorio de Microbiología. Deberán mandarse una o dos torundas faríngeas de Dacron o alginato calcico del area amigdalara y de la faringe posterior así como de cualquier área inflamada o ulcerada. Obtener pseudomembranas si es posible. En caso de sospecha de portadores obtener una torunda nasofaríngea por vía pernasal.

6.1.2. EXUDADO NASOFARÍNGEO

Es la muestra indicada para la **detección y cultivo de *Bordetella pertussis*** y para la investigación de virus respiratorios tales como: **SARS-CoV-2, VRS, Gripe y otros virus respiratorios.**

A.- Material necesario

- Para aspirados: Tubo aspirador de Teflón, jeringa y catéter.
- Para muestras recogidas con torunda:



- **Torundas flexibles de alginato cálcico con medio de transporte de Stuart-Amies** para detección y cultivo de *Bordetella pertussis*



- **Torundas con medio de transporte para virus.** En el hospital está disponible el UTM Kit, que contiene 3 ml de medio de transporte para virus y 2 torundas de nylon, una estándar para la cavidad faríngea y otra más fina para ambas fosas nasales.



B.- Obtención de la muestra

- **Aspirado:** Aspirar el moco, pasando el tubo de teflón o un catéter conectado a una jeringa por vía pernasal.
- **Torunda flexible con medio de transporte líquido Stuart-Amies:** pasar la torunda a través de la nariz suavemente, hasta llegar a la nasofaringe. Hay que mantener la torunda cerca del septum y suelo de la fosa. Rotar la torunda y extraerla.
- **Torunda con medio de transporte para virus:** Ver procedimiento para obtención de la muestra en apartado 23.1

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Es suficiente una torunda.**
- **Volumen de aspirado entre 0.5-1ml.**

D.- Transporte y conservación

- **Los aspirados para cultivo de *Bordetella pertussis* deben enviarse en < 15 minutos a temperatura ambiente.**
- **Torunda flexible con medio de transporte líquido Stuart-Amies: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.**
- **Torunda con medio de transporte para virus: transporte inmediato al laboratorio o si se realiza desde otro centro el transporte debe ser refrigerado (acumuladores de frío) en un contenedor secundario.**

E.- Observaciones

- Ante la sospecha de *C. diphtheriae*, contactar antes de la toma de la muestra con el laboratorio de Microbiología.

6.1.3. EXUDADO NASAL

- Para investigación de portadores de *Staphylococcus aureus*.
- En el diagnóstico de sinusitis, el aspirado la secreción nasal únicamente es apto para estudio fúngico; Para el diagnóstico de sinusitis aguda es una muestra inaceptable.

A.- Material necesario

- Torunda de alginato cálcico con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Solución salina estéril.

B.- Obtención de la muestra

- Empapar el hisopo con solución salina estéril.
- Introducirlo aproximadamente 2 cm dentro de la nariz.
- Rotar la torunda contra la mucosa nasal, extraer e introducir dicha torunda en la otra fosa y repetir el proceso anterior.

C.- Número de muestras

- Es suficiente una torunda.

D.- Transporte y conservación

- Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

E.- Observaciones

- La flora bacteriana que se recupera en fosa nasal no tienen por que ser la misma que se aísla en el seno en caso de sinusitis, por lo que los cultivos de exudados nasales no sirven para el diagnóstico etiológico de las sinusitis bacteriana.

6.1.4. EXUDADO SINUSAL

- Aspiración bajo visión endoscópica del meato medio: Actualmente es la muestra de elección. Debe ser realizada por personal especializado y se lleva a cabo a través de un endoscopio rígido dirigido directamente al meato medio, lo cual permite visualizar la salida de material purulento a través de dicho meato además de la obtención de las muestras.
- Punción aspirativa sinusal: sólo en casos graves. Requiere un especialista en O.R.L. o personal especializado en dicha técnica, exige la aplicación de anestesia local y no está totalmente exenta de complicaciones.

A.- Material necesario

- Alcohol etílico o isopropílico al 70%, povidona yodada.
- Contenedor estéril con cierre hermético
- Sistema de transporte para anaerobios.
- Material quirúrgico de O.R.L.

B.- Número de muestras y/o volumen

- En la punción aspirativa sinusal se intentará obtener entre 1 y 10 ml de muestra.

C.- Transporte y conservación

- Las muestras recogidas por punción pueden remitirse en la misma jeringa de aspiración protegida con aguja estéril con su protector lo antes posible: envío en < 15 minutos a temperatura ambiente
- Si el envío no es inmediato, se deben inocular en un contenedor estéril con medio de transporte para anaerobios: envío en < 24 horas a temperatura ambiente.

6.1.5. EXUDADO CAVIDAD ORAL

- Es la muestra indicada para el diagnóstico de “Candidiasis” o de la “Angina de Vincent”.

A.- Material necesario

- Torundas de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies.

B.- Obtención de la muestra

- En primer lugar, previamente a la toma, el paciente se enjuagará la boca con agua.
- Frotar o raspar las lesiones con una torunda de algodón para eliminar las secreciones y restos celulares y se tirará la torunda usada.
- Con una segunda torunda, se realizará otra toma sobre las lesiones previamente raspadas, que será la que se envíe para cultivo.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Es suficiente una torunda.

D.- Transporte y conservación

- **Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.**

6.2. TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

6.2.1. ESPUTO ESPONTÁNEO, ESPUTO INDUCIDO

En las condiciones habituales de la clínica diaria, no es una muestra representativa de la situación existente en el tracto respiratorio inferior por su mezcla con secreciones procedentes de todo el árbol traqueo-bronquial y con la flora saprófita de la orofaringe. No obstante, es un método fácil y rápido cuya utilidad o relación entre resultado obtenido y verdadera etiología depende en gran medida de su correcta obtención, control de calidad antes de iniciar su procesamiento, tipo de agente que se pretenda detectar y valoración adecuada del resultado.

A.- Material necesario

- Frasco estéril de boca ancha y cierre hermético.
- Suero fisiológico estéril al 3-10% y nebulizador.

B.- Obtención de la muestra



- Para disminuir la contaminación superficial de la muestra con la microbiota que coloniza el tracto respiratorio superior y la cavidad oral, se han recomendado algunas medidas a tomar, como la extracción de la dentadura postiza, si se utiliza, y el enjuague de la boca con agua o solución salina estériles, antes de la recogida de la muestra.
- El esputo obtenido por expectoración espontánea debe ser el resultado de un golpe de tos profunda y contener secreciones purulentas representativas del tracto respiratorio inferior. Se desecharán los esputos compuestos por saliva o secreciones postnasales
- El esputo inducido, obtenido por la inhalación de NaCl al 3% mediante un nebulizador ultrasónico, tiene su principal indicación para la detección de *Pneumocystis jiroveci* y *Mycobacterium tuberculosis*. Para el resto de los microorganismos su utilidad es dudosa.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Para el cultivo bacteriano rutinario es suficiente una muestra.
- Volumen > 1ml.

D.- Transporte y conservación

- A temperatura ambiente < 2 horas.
- Refrigerado a 4°C < 24 horas.

E.- Observaciones

- Es preferible realizar la toma antes de instaurar el tratamiento antibiótico.
- Esta muestra no sirve para cultivo de anaerobios.
- Los esputos serán rechazados si no alcanzan la calidad suficiente.
- No se añadirá a la muestra ninguna sustancia conservadora ni antiséptica.

6.2.2. ASPIRADO ENDOTRAQUEAL

- La aspiración traqueal o endotraqueal es el método más sencillo de obtener secreciones respiratorias en los pacientes intubados y con ventilación mecánica para la detección de los agentes causales de la infección del tracto respiratorio inferior.
- Con frecuencia, las secreciones así obtenidas son erróneamente denominadas “BAS” cuando en realidad se corresponden con el “Aspirado Endotraqueal”. Por lo que es conveniente no confundir esta muestra con el BAS (broncoaspirado selectivo), secreciones bronquiales obtenidas mediante fibrobroncoscopia o mediante técnicas ciegas no broncoscópicas por aspiración tras enclavamiento de un cateter, telescopado o no, en un bronquio distal.

A.- Material necesario

- Sonda de aspiración.
- Contenedor estéril de cierre hermético.

B.- Obtención de la muestra

- La recogida de la muestra se realiza por aspiración a través del tubo endotraqueal.
- En ocasiones puede ser necesario diluir con suero salino las secreciones viscosas y facilitar de este modo la recogida.

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Volumen >2ml.**
- **Es suficiente una muestra.**

D.- Transporte y conservación

- **A temperatura ambiente < 2 horas.**
- **Refrigerado a 4°C < 24 horas.**

E.- Observaciones

- No deben cultivarse las secreciones de la traqueostomía, ya que la traqueostomía en las 24 primeras horas de su inserción se coloniza con múltiples bacterias que no corresponden a las causantes de la infección pulmonar

6.2.3. MUESTRAS OBTENIDAS A TRAVÉS DE FRIBROBRONCOSCOPIA

- La fibrobroncoscopia tiene por objeto la obtención de muestras representativas del tracto respiratorio inferior correspondientes a la vía aérea o al segmento pulmonar radiológicamente afectos, sin contaminación con microbiota de la orofaringe o, al menos, con la menor contaminación posible.

A.- Material necesario

- Fibrobroncoscopio y material específico de broncoscopia.
- Contenedor estéril de boca ancha y de cierre hermético.
- Tubo estéril con 1ml de solución Ringer o suero fisiológico estéril.
- Material de corte estéril.

B.- Obtención de la muestra:

- **BRONCOASPIRADO SELECTIVO (BAS):** Recogida de secreciones respiratorias a través de fibrobroncoscopio, pudiendo introducirse de 3 a 5ml de suero fisiológico previo a la aspiración.

- **CEPILLADO BRONQUIAL POR CATÉTER TELESCOPADO (CBCT):**
 - Cepillado de la mucosa bronquial del lóbulo afectado a través de un fibrobroncoscopio mediante un cepillo telescopado protegido por un doble catéter ocluido distalmente para evitar la contaminación de vías altas.

 - Su única indicación es el diagnóstico de la neumonía bacteriana y su fin obtener muestras del foco de infección evitando la contaminación orofaríngea. Para ello se emplea un doble catéter telescópico (catéter telescopado protegido), el catéter interno contiene un cepillo con numerosas cerdas flexibles y el externo está ocluido en su porción distal por un tapón de material reabsorbible. Al llegar con el fibroscopio hasta el bronquio que conduce al foco infeccioso se empuja el cepillo para desalojar el tapón y obtener la muestra, girándolo suavemente para conseguir que se adhieran las secreciones de los bronquiolos distales. Extraído el fibroscopio, se corta el cepillo en condiciones estériles y **se introduce en un tubo que contiene 1 ml de suero fisiológico estéril.**

 - Combinando este sistema de obtención de la muestra con el cultivo cuantitativo de la misma se consigue aumentar la sensibilidad y especificidad. Para una muestra así obtenida, el punto de corte que indica que exista una alta probabilidad de neumonía se establece en 10^3 ufc/ml por comparación con los resultados de cultivos cuantitativos de biopsias de pulmón.

- **LAVADO BRONCOALVEOLAR (BAL):**
 - Lavado de un segmento pulmonar (lóbulo medio o llingula) previo anclado del broncoscopio, **introduciendo de 20 a 100 ml de suero fisiológico.** Después de cada instilación se hace una aspiración para recuperar el máximo volumen de líquido posible, formado por una mezcla del suero fisiológico y secreción broncoalveolar. El procedimiento no está estandarizado, en el sentido de que no está establecida la cantidad de suero fisiológico a instilar ni el número de alícuotas necesario.

 - El volumen de muestra obtenido depende del volumen instilado y puede variar entre 10 y 100 ml. Se considera que para tener una buena eficacia diagnóstica el volumen de líquido recuperado debe ser superior al 30% del introducido e idealmente no inferior a 60 ml. Se considera que el suero instilado lava y obtiene material de alrededor de un millón de alvéolos (el 1% de la superficie pulmonar).

 - La primera porción de líquido aspirado debe descartarse para el estudio microbiológico ya que suele contener un exceso de células escamosas y ciliadas. El último líquido aspirado es el que mejor representa el contenido alveolar. Indicado especialmente en procesos pulmonares intersticiales.

 - De escasas complicaciones, pero no obvia la contaminación orofaríngea cuyo problema puede disminuirse si se inserta un tubo endotraqueal para pasar el broncoscopio.

- En el empleo del BAL para el diagnóstico de las neumonías bacterianas, se hacen cultivos cuantitativos siendo significativos crecimientos superiores a 10^4 ufc/ml.
- **BIOPSIA TRANSBRONQUIAL (BTB)**: Obtención de tejido pulmonar mediante técnica broncoscópica. Es una técnica útil que puede evitar la biopsia pulmonar quirúrgica en casos seleccionados de lesiones localizadas. Posible contaminación de la pinza de biopsia. Complicaciones: neumotórax, hemorragia.

C.- Número de muestras y/o volumen

- **BAS**: > 1ml.
- **BAL**: 10-100 ml
- **CBCT**: remitido en 1ml de solución Ringer o suero fisiológico.
- **BTB**: la máxima cantidad posible. Añadir 1 ml de suero fisiológico estéril (o agua estéril si es para cultivo de micobacterias)

D.- Transporte y conservación

- A temperatura ambiente < 2 horas.
- Refrigerado a 4°C < 24 horas.

E.- Observaciones

- Si se van a recoger varias muestras, el BAS y el BAL deben recogerse antes que el Cepillado bronquial y/o la Biopsia bronquial para evitar el exceso de sangre en la dichas muestras.
- Es aconsejable recoger tres esputos en días consecutivos tras la fibrobroncoscopia.

6.2.4. LIQUIDO PLEURAL

- La punción pleural es una técnica habitual en el estudio del derrame pleural ya que puede obtener hasta el 75% de los diagnósticos etiológicos, infecciosos o no. Consiste en la extracción de líquido pleural con una aguja introducida transparietalmente

A.- Material necesario

- Paños, gasas y guantes estériles
- Jeringuillas y agujas estériles. No se deben utilizar jeringuillas heparinizadas, pues la heparina lleva conservantes que pueden interferir la viabilidad de los microorganismos.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada.
- Contenedor estéril con cierre hermético.
- Medio de transporte para anaerobios.
- Frascos de hemocultivos.

B.- Obtención de la muestra

- Deberá seguirse una técnica rigurosamente estéril.
- Desinfectar la piel con alcohol, haciendo círculos concéntricos desde el centro hacia la periferia en una zona de unos 10 cm de diámetro.
- Repetir el paso anterior con povidona yodada, dejando secar durante un minuto. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, realizar la desinfección con alcohol dos veces consecutivas.
- La toma se hace por punción percutánea (toracocentesis) de forma aséptica para evitar la contaminación por la flora cutánea o ambiental.
- Una vez realizada la toma percutánea se retira la povidona yodada de la piel con un apósito impregnado en etanol al 70%.
- Para inoculación de frascos de hemocultivos, seguir las indicaciones del apartado correspondiente (Apartado nº 3: Hemocultivos). Este es un sistema adicional a los anteriores.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Para estudio bacteriano rutinario es suficiente de 1 a 10 ml en un contenedor estéril de cierre hermético o con medio de transporte para anaerobios.
- Cuando se requiera la investigación de *Mycobacterium spp* y hongos se enviará un volumen superior a 10ml en un contenedor estéril de boca ancha (ver apartado correspondiente).
- Para cultivo en frasco de hemocultivo, con respecto al volumen de muestra seguir las indicaciones señaladas en el apartado correspondiente. Se inocularán un frasco para cultivo de aerobios y/o un frasco para cultivo de anaerobios en función del estudio que se pretenda.

D.- Transporte y conservación

- Muestras recogidas en un contenedor con medio de transporte para anaerobios: a temperatura ambiente <24 horas. Estos viales o tubos prerreducidos deben utilizarse especialmente en las muestras en que habitualmente se encuentran estas bacterias, como es el caso de los empiemas pleurales.
- Para muestras sin medio de transporte el envío debe ser inmediato, < 15 minutos a temperatura ambiente.
- El frasco de hemocultivo para su conservación y transporte ver apartado correspondiente.
- Los líquidos para cultivo de hongos o Micobacterias es mejor conservarlos a 4°C <24 horas.

E.- Observaciones

- Cuando se utilice una anestesia local, hay que cambiar de jeringuilla y aguja para hacer la extracción de la muestra, ya que los anestésicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano.
- Nunca utilizar frascos de hemocultivos para investigación de Micobacterias ni cuando se requieran exámenes microscópicos directos.

6.2.5. BIOPSIA PULMONAR

- Las técnicas invasivas son las que permiten la obtención de muestras más representativas, no obstante, sólo deben emplearse cuando fracasen otros métodos menos invasivos o cuando la situación del enfermo haga imprescindible conocer el diagnóstico etiológico.

A.-Material necesario

- Material quirúrgico específico para punción.
- Contenedor estéril de cierre hermético.
- Medios de transporte para anaerobios.
- Suero fisiológico estéril.

B.- Obtención de la muestra

- La biopsia pulmonar realizada mediante punción aspirativa transtorácica (PAAF) se realiza con aguja fina de forma percutánea, es poco agresiva y no requiere anestesia general. Se hace guiada por ecografía o por tomografía axial computarizada (TAC), que es el mejor método de guía. Su principal indicación es la lesión periférica, como el nódulo pulmonar.

C.- Número de muestras y/o volumen

- La mayor cantidad que sea posible.

D.- Transporte y conservación

- Envío inmediato, < 15 minutos a temperatura ambiente, para las muestras sin medio de transporte remitidas en la jeringa de aspiración.
- Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.
- Las muestras para cultivo de hongos o Micobacterias es mejor conservarlos a 4°C <24 horas.

7. LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

Se obtendrá antes de instaurar cualquier terapéutica antibiótica.

A.- Material necesario

- Paños, guantes y gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.



- Povidona yodada.
- Anestésico local.
- Jeringuillas de 5-10ml.
- Agujas de punción IM.
- Trócares de punción lumbar de varios tamaños.
- Tubos estériles con tapón de goma o rosca.
- Sistemas de presión de LCR de un solo uso.

B.- Obtención de la muestra

- **LCR obtenido por punción lumbar.**

- Se localiza la zona elegida para la punción lumbar mediante palpación de los espacios intervertebrales una vez colocado el paciente en la posición adecuada.
- Se desinfecta con alcohol al 70% una zona de 10 cm de diámetro en el área elegida. La aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia. Se repite la operación con povidona yodada que se deja secar durante un minuto.
- Realizar la punción entre los espacios intervertebrales L3-L4, L4-L5 o L5-S1, siguiendo las normas de la más estricta asepsia.
- Al llegar al espacio subaracnoideo retirar el estilete y dejar salir libremente el líquido cefalorraquídeo que se recogerá en tres tubos SIN conservantes y estériles.

- Generalmente el primer tubo es para bioquímica, el segundo para el estudio microbiológico y el tercero para investigación de células (este suele ser el más transparente aunque la punción haya sido traumática). No obstante, el tubo más turbio se enviará a Microbiología.

- **LCR obtenido de reservorio:**

- Hacer la toma del lugar de colección del reservorio, previa desinfección.

C.- Número de muestras y/o Volumen

- **Estudio bacteriológico: > 1ml.**
- **Cultivo de hongos: 2 a 10ml.**
- **Cultivo de Micobacterias: 2 a 10ml.**
- **Estudio de Virus: > 1ml.**
- **PCR múltiple: 0.5 ml.**

D.- Transporte y Conservación

- **Para estudio bacteriológico debe enviarse en < 15 minutos al laboratorio (*Streptococcus pneumoniae* puede lisarse en 1 hora); si no es posible se mantendrá en estufa a 35-37°C y una parte se inoculará en un frasco de hemocultivo de aerobios que deberá mantenerse también en estufa hasta su envío a Microbiología. Si no se dispone de estufa se mantendrá a temperatura ambiente. NUNCA REFRIGERAR** pues puede afectar la viabilidad de *N. meningitidis* y *H. influenzae*.

- En el LCR no se estudian rutinariamente los anaerobios. En caso de solicitar dicho estudio y cuando el transporte a Microbiología no sea en <15 minutos, se utilizará un medio de transporte de líquidos para estudio de anaerobios y se inoculará una parte en un frasco de hemocultivos de anaerobios.
- **El transporte de las muestras para estudio de virus debe realizarse inmediatamente. Si se realiza desde otro centro, el transporte será refrigerado (acumuladores de frío). Si dicho envío se retrasa >24 horas, se deberán congelar a -20°C o bien a -70°C .**

E.- Observaciones

- Como la meningitis suele surgir por un proceso bacteriémico, se solicitarán simultáneamente hemocultivos, pudiendo ser así mismo estudiadas las posibles lesiones metastásicas cutáneas.
- Es necesario que en la petición se señale claramente las investigaciones solicitadas (bacterias habituales, micobacterias, anaerobios, hongos).

8. LÍQUIDOS ORGÁNICOS

En este apartado se incluyen líquidos orgánicos (habitualmente estériles), excepto LCR: líquido peritoneal, líquido de diálisis peritoneal, articular y pericárdico, médula ósea, líquido ascítico, etc.

A.- Material necesario

- Paños, gasas y guantes estériles
- Jeringuillas y agujas estériles. No se deben utilizar jeringuillas heparinizadas, pues la heparina lleva conservantes que pueden interferir la viabilidad de los microorganismos.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada.
- Contenedor estéril con cierre hermético.
- Contenedor estéril de boca ancha (del tipo para urocultivo).
- Frascos de hemocultivos.



B.- Obtención de la muestra

Varía dependiendo del líquido corporal del que se trate.

- Deberá seguirse una técnica rigurosamente estéril.
- Desinfectar la piel con alcohol etílico al 70%, haciendo círculos concéntricos desde el centro hacia la periferia en una zona de unos 10 cm de diámetro.

- Repetir el paso anterior con povidona yodada, dejando secar durante un minuto. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, realizar la desinfección con alcohol dos veces consecutivas.
- La toma se hace por punción percutánea (paracentesis, punción pericárdica o punción articular) de forma aséptica para evitar la contaminación por la flora cutánea o ambiental. La punción pericárdica se realiza con control electrocardiográfico.
- Una vez realizada la toma percutánea se retira la povidona yodada de la piel con un apósito impregnado en etanol al 70%.
- Más raramente se pueden realizar tomas de estas localizaciones en el transcurso de intervenciones quirúrgicas. En esta circunstancia debe desaconsejarse el uso de hisopos (escobillones), siendo preferible también la aspiración; solo se utilizarán hisopos (escobillones) cuando el contenido no pueda ser aspirado.
- En pacientes con diálisis peritoneal o peritonitis bacteriana espontánea, donde el número de microorganismos presentes es muy bajo, inocular el líquido peritoneal en frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio y remitir un volumen pequeño (0,5 ml) para la realización de la tinción de Gram. Su uso ha aumentado la rentabilidad del cultivo de líquido de diálisis peritoneal.
- Para inoculación de frascos de hemocultivos, seguir las indicaciones del apartado correspondiente (Apartado nº 3: Hemocultivos). Este es un sistema adicional a los anteriores. Está particularmente indicado cuando el envío se puede retrasar o en los líquidos que pueden coagularse.



C.- Número de muestras y/o volumen

- **Para estudio bacteriano rutinario es suficiente de 1 a 10ml en un contenedor estéril de cierre hermético o medio de transporte.**
- **Si el volumen es pequeño remitir la muestra en un vial de transporte de anaerobios.**
- **Cuando se requiera la investigación de *Mycobacterium spp* y hongos se enviará un volumen superior a 10 ml en un contenedor estéril de boca ancha.**
- **Para cultivo en frasco de hemocultivo**, con respecto al volumen de muestra seguir las indicaciones señaladas en el apartado correspondiente. Se inocularán un frasco para cultivo de aerobios y/o un frasco para cultivo de anaerobios en función del estudio que se pretenda.

D.- Transporte y conservación

- **Muestras recogidas en un contenedor sin medio de transporte se remitirán a temperatura ambiente en < 15 minutos. Los recipientes idóneos son tubos estériles de tapón de rosca o de presión negativa sin conservantes. Se llenarán hasta cerca del tapón. De esta forma pueden ser útiles para el estudio de anaerobios, especialmente si la muestra es purulenta.**
- **Los líquidos para cultivo de hongos o micobacterias es mejor conservarlos a 4°C <24 horas.**

- **El líquido pericárdico es mejor conservarlo a 4°C < 24 horas.**
- Si se utiliza la misma jeringuilla de extracción para transportar la muestra es imprescindible sustituir la aguja por un tapón de jeringa. Se desaconseja este método por el riesgo de derrame de la muestra.
- El frasco de hemocultivo se recomienda como transporte de líquidos articulares. Para su conservación y transporte ver apartado correspondiente.

E.- Observaciones

- Cuando se utilice una anestesia local, hay que cambiar de jeringuilla y aguja para hacer la extracción de la muestra, ya que los anestésicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano.
- Nunca utilizar frascos de hemocultivos para investigación de micobacterias ni cuando se requieran exámenes microscópicos directos.
- Si es necesario evitar la coagulación de alguno de estos líquidos se usará heparina sin conservantes (otros anticoagulantes pueden tener acción bactericida).

9. TRACTO GENITAL

9.1. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO

9.1.1. EXUDADOS VAGINALES

A.- Material necesario

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torunda con medio de transporte líquido Amies (eSwab tapón rosa)



B.- Obtención de la muestra

- Con la paciente en posición ginecológica se introducirá un espéculo “sin lubricante” (si es necesario lubricar utilizar agua templada).
- Recoger la muestra, bajo visión directa, con una torunda, de la zona con mayor exudado o, en su defecto, del fondo del saco vaginal posterior.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Se obtendrá una torunda, destinada al estudio microscópico y cultivo.

D.- Transporte y conservación

- Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente.

E.- Observaciones

- Aunque ocasionalmente puede aislarse *Neisseria gonorrhoeae* de muestras vaginales, ésta no es la localización habitual de dicha infección.
- **Cuando se sospeche infección por *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*, deberá enviarse muestra endocervical.**
- Para completar el diagnóstico de vaginosis, si la toma no se realiza en Microbiología, es importante realizar en el momento de la misma: la determinación del pH vaginal, la producción de aminas volátiles por la adición de KOH al 10% y observar las características del flujo. Todos estos datos se consignarán en el volante de petición.
- No deben utilizarse en los días previos a la recogida de la muestra soluciones antisépticas, óvulos ni pomadas.

9.1.2. EXUDADOS ENDOCERVICALES



A.- Material necesario

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torundas secas sin medio de transporte (para limpieza de endocérvix).
- Torundas con medio de transporte líquido Amies (eSwab tapón rosa).
- Para detección de *Chlamydia trachomatis* emplear torunda seca o con medio de transporte.

B.- Obtención de la muestra

- Con la paciente en posición ginecológica se introducirá un espéculo “sin lubricante” (si es necesario lubricar utilizar agua templada).
- Limpiar el orificio cervical de secreciones vaginales, con una torunda seca y descartarla.
- Bajo visión directa se comprimirá cuidadosamente el cérvix con las palas del espéculo y se introducirá una torunda 2-3 cm en el canal endocervical con un suave movimiento de rotación durante 5-10 seg.
- Repetir la operación con una segunda torunda.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Se obtendrán dos torundas, una para examen microscópico y cultivo y otra para biología molecular.

D.- Transporte y conservación

- **Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.**

E.- Observaciones

- **Debe evitarse el uso de torundas de algodón ya que contienen ácidos grasos insaturados que pueden inhibir el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae*.**

9.1.3. EXUDADOS URETRALES

A.- Material necesario

- Hisopo fino con medio de transporte líquido Amies (eSwab tapón naranja)
- Gasas estériles.



B.- Obtención de la muestra

- Limpiar cuidadosamente la mucosa circundante con gasas estériles.
- Introducir la torunda suavemente unos 2-4 cm dentro de la uretra, rotar y dejar al menos 2 segundos para que se absorba la secreción.
- Cuando no haya suficiente exudado, puede estimularse mediante un masaje suave de la uretra contra la sínfisis del pubis, a través de la vagina.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Se obtendrá una torunda destinada al estudio microscópico, cultivo y biología molecular.

D.- Transporte y conservación

- **Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.**

E.- Observaciones

- La muestra ha de recogerse preferentemente antes de la primera micción de la mañana. Si no es posible, se deberá esperar al menos 2 horas tras la última micción para recogerla.

9.1.4. EXUDADOS RECTALES

A.- Material necesario

- Hisopo con medio de transporte líquido Amies (eSwab tapón rosa).
- Guantes de goma.



B.- Obtención de la muestra

- Introducir la torunda suavemente 2-3 cm a través del esfínter anal.
- Rotar contra las criptas rectales, dejar 10-30 segundos para que se absorban los microorganismos y extraer.
- Se intentará evitar el contacto con materia fecal. Cuando la torunda salga contaminada con heces, deberá recogerse una nueva muestra.
- Cuando se sospeche proctitis por *Chlamydia trachomatis*, las muestras deberán tomarse mediante visión directa por anoscopia, buscando las lesiones ulcerosas o hipertróficas.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Se obtendrán una torunda destinada al cultivo y estudio de biología molecular.

D.- Transporte y conservación

- Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas

9.1.5. EXUDADOS VAGINO-RECTALES

Para estudio de colonización (por *Streptococcus agalactiae*), en la semana 36 a 37 de gestación.

A.- Material necesario

- Guantes de goma.
- Torunda con medio de transporte líquido Amies (eSwab tapón rosa).



B.- Obtención de la muestra

- Se introducirá una torunda en la vagina cerca del introito (aproximadamente 2 cm), rotar y dejarla dentro durante 10-30 segundos. No es necesario el uso de espéculo.
- Introducir a continuación dicha torunda suavemente a través del esfínter anal (1 cm). Dejar 10-30 segundos para que se absorban los microorganismos y extraer.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Basta con una torunda para cultivo.

D.- Transporte y conservación

- Torundas con medio de transporte: < 24-48 horas a temperatura ambiente (si 21-24 °C) o refrigerado a 4°C.

E.- Observaciones

- **Si la paciente es alérgica a la Penicilina debe consignarse este dato en el volante de petición, ya que sólo en estos casos se realiza estudio de sensibilidad.**

9.1.6 ENDOMETRIO

Se ha cuestionado ampliamente la utilidad de estas muestras para el diagnóstico de endometritis.

A.- Material necesario

- Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Catéteres de doble luz.
- Contenedor estéril de cierre hermético.
- Jeringa y agujas estériles.
- Viales o tubos prerreducidos para transporte de anaerobios.



B.- Obtención de la muestra

- **Métodos no invasivos:**
Los métodos no invasivos como las torundas pasadas a través del cervix, se contaminan sistemáticamente, obteniéndose resultados similares en mujeres con endometritis y en mujeres sanas.
- **Métodos invasivos:**
Se han descrito varios métodos intentando eliminar la contaminación cervical, como son la aspiración uterina a través de un catéter de doble luz, el uso de torundas protegidas, o el método descrito por Martens et al. con el que se obtienen bajos índices de contaminación tomando las muestras con una

torunda o aspirando con un catéter, previa dilatación y descontaminación del cérvix con Povidona yodada.

- Hemocultivos: siempre es recomendable en estos casos la toma de hemocultivos, ya que se obtienen resultados positivos en un 30% de los casos de endometritis.

C.- Número de muestras y/o volumen

- En caso de toma de muestras con torundas, se obtendrán dos, una para examen microscópico y la otra para cultivo.
- Hemocultivos: ver apartado correspondiente.

D.- Transporte y conservación

- Torundas o aspirados con medio de transporte: <24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.
- Hemocultivos: ver apartado correspondiente.

E.- Observaciones

- Debe evitarse el uso de torundas de algodón ya que contienen ácidos grasos insaturados que pueden inhibir el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae*.
- En cualquiera de los casos, los resultados del cultivo de este tipo de muestras deben interpretarse con cautela, teniendo siempre en cuenta la posibilidad de una contaminación cervical.

9.1.7. CULDOCENTESIS

A.- Material necesario

- Material quirúrgico que requiera la técnica.
- Medio de transporte para cultivo de anaerobios.
- Contenedor estéril de cierre hermético.



B.- Obtención de la muestra

- Después de limpiar la pared vaginal con desinfectante quirúrgico, como povidona yodada, realizar punción transvaginal del fondo de saco de Douglas para aspirar el líquido.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Obtener de 1-5ml de muestra.

D.- Transporte y conservación

- **Muestras en contenedor estéril o en la misma jeringa: se remitirán en < 15 minutos a temperatura ambiente.**
- **Muestras en medio de transporte: se remitirán en < 24 horas mantenidas a temperatura ambiente.**

E.- Observaciones

- El material obtenido por culdocentesis es representativo de los microorganismos existentes en las trompas.

9.1.8. TROMPAS Y OVARIOS



A.- Material necesario

- Material quirúrgico que requiera la técnica.
- Agujas y jeringas estériles.
- Contenedores estériles.
- Medio de transporte para cultivo de anaerobios.
- Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte tipo Stuart- Amies o catéter telescópico.



B.- Obtención de la muestra

- Deben obtenerse por laparotomía o laparoscopia.
- La muestra se recogerá directamente de la luz de la trompa mediante una torunda o con un cepillo de broncoscopia.
- Cuando la trompa esté obstruida se podrá recoger la muestra por punción-aspiración.



C.- Número de muestras y/o volumen

- **Se recogerá la máxima cantidad de muestra posible. En el caso de muestras líquidas se intentará obtener de 1-5 ml. En el caso de torundas: dos o tres.**

D.- Transporte y conservación

- **Muestras en contenedor estéril o en la misma jeringa: se remitirán en < 15 minutos a temperatura ambiente.**
- **Muestras en medio de transporte: se remitirán en < 24 horas mantenidas a temperatura ambiente.**

9.1.9. VULVA

A.- Material necesario

- Torunda con medio de transporte líquido Amies (eSwab tapón rosa).
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada al 5%.
- Jeringas y agujas estériles.
- Agua estéril.



B.- Obtención de la muestra

- Desinfectar la piel con alcohol y povidona yodada. Las superficies mucosas se limpiarán con agua estéril, nunca con alcohol ni povidona.
- Frotar con dos torundas entre las lesiones, si hay abscesos aspirarlos con jeringa y aguja.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Abscesos: se intentará obtener la mayor cantidad posible (> 1ml).
- Muestra de exudado o área de eritema: una torunda (eSwab tapón rosa) destinada al examen microscópico y cultivo.

D.-Transporte y conservación

- **Muestras con medio de transporte: < 24 horas mantenidas a temperatura ambiente.**

9.1.10. LESIONES CUTANEOMUCOSAS PARA CAMPO OSCURO

Para estudio de *Treponema pallidum*.

A.- Material necesario

- Guantes de goma estériles.
- Gasas estériles.
- Suero salino estéril.
- Pipeta Pasteur o capilar de vidrio.
- Portaobjetos y cubreobjetos.

B.- Obtención de la muestra

- Una vez colocados los guantes, se limpiará la superficie de la lesión con gasas humedecidas con suero salino. Se evitarán en la limpieza jabones u otras sustancias, ya que pueden tener actividad antitreponémica.
- Con una gasa seca se frota suavemente la lesión hasta que se obtenga el fluido, intentando no producir demasiado sangrado, ya que pueden interferir en el examen microscópico.
- Presionar suavemente la base de la lesión hasta la salida de líquido profundo a la superficie. Recoger el fluido por capilaridad con una pipeta Pasteur o un capilar o aplicando directamente un portaobjetos.
- Si no hay presencia de exudado, añadir una gota de solución salina en la lesión, insertar una aguja y jeringa en la base de la lesión y aspirar.
- Colocar una gota de fluido en un portaobjetos limpio y examinar inmediatamente en microscopio con campo oscuro. Si es necesario añadir 1 gota de suero salino.

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Antes de considerar un examen como negativo, hay que estudiar 3 muestras obtenidas en días consecutivos.**

D.- Transporte y conservación

- **La toma debe realizarse en el mismo laboratorio y procederse de inmediato al examen microscópico de la misma (en menos de 20 minutos) para observar la movilidad de los microorganismos.**

9.1.11. GANGLIOS LINFÁTICO INGUINALES

Ante la sospecha de linfogranuloma venéreo (LGV). Para el estudio de *Haemophilus ducreyi* la recuperación es menor en bubones intactos que de la base de la úlcera o bubones abiertos.

A.- Material necesario

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada al 10%.
- Jeringa y aguja o material quirúrgico.
- Contenedor estéril.



B.- Obtención de la muestra

- Desinfectar la piel con alcohol y posteriormente con povidona yodada, dejándola secar durante 1 minuto.
- Realizar una punción aspiración con jeringa y aguja o una escisión quirúrgica del ganglio.

C.- Número de muestras y/o volumen

- **La máxima cantidad de muestra que se pueda obtener.**

D.- Transporte y conservación

- **Muestra obtenida por punción-aspiración: Enviar la muestra inmediatamente en la jeringa de la punción.**
- **Muestra quirúrgica: enviar la muestra en un contenedor estéril en < 1 hora y conservada a temperatura ambiente.**

E.- Observaciones

- Es preferible obtener la muestra por punción-aspiración de la adenopatía a través de piel sana.
- Debe avisarse al laboratorio previamente a la toma para que esté prevenido y tenga a punto el medio de cultivo apropiado para *H. ducreyi*.

9.1.12. LÍQUIDO AMNIÓTICO

A.- Material necesario



- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada al 10%.
- Aguja y jeringa estéril para amniocentesis.
- Contenedor estéril.
- Contenedor con medio de transporte para anaerobios.
- Monitorización del feto.

B.- Obtención de la muestra

- Desinfectar la piel con alcohol y posteriormente con povidona yodada, dejándola secar durante 1 minuto y aspirar vía amniocentesis.

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Se intentará obtener una muestra de 1-5 ml.**

D.- Transporte y conservación

- **Muestras con medio de transporte:** < 24 horas mantenidas a temperatura ambiente.

9.1.13. RESTOS PLACENTARIOS

Ante sospecha de infección por *Listeria monocytogenes* o *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo B (*S. agalactiae*).

A.- Material necesario

- Material quirúrgico.
- Contenedor estéril.
- Contenedor con medio de transporte para anaerobios.
- Hemocultivos



B.- Obtención de la muestra

- Se obtendrán secciones de tejido de las zonas sospechosas.
- Hemocultivos: siempre es recomendable en casos de aborto séptico la toma de hemocultivos, ya que se obtienen resultados positivos en 2/3 de los casos.

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Restos placentarios:** se intentará obtener muestras de 1 cm³.
- **Hemocultivos:** ver apartado correspondiente.

D.- Transporte y conservación

- **Restos placentarios:** Enviar al laboratorio lo antes posible, y antes de 2 horas desde la obtención. Si el envío se va a demorar más de 2 horas, introducir el tejido en un vial de transporte para anaerobios de boca ancha, en el que la muestra se puede conservar a temperatura ambiente durante 24 horas.
- **Hemocultivos:** ver apartado correspondiente

E.- Observaciones

- Son muestras habitualmente muy contaminadas y difíciles de evaluar, salvo que se hayan obtenido por cesárea.

9.1.14. ÚLCERAS GENITALES

A.- Material necesario

- Torundas con medio de transporte líquido Amies (eSwab tapón rosa)
- Gasas estériles.
- Suero salino estéril



B.- Obtención de la muestra

- Se limpiará la superficie de la lesión con una gasa humedecida en suero salino estéril. Evitar la aplicación previa de antisépticos.
- Si hay una vesícula (descartar VHS) aspirar el contenido con una jeringa.
- En ausencia de vesículas, frotar vigorosamente la base con la torunda sin provocar sangrado.
- Si la lesión presenta costra, retirarla y humedecer un hisopo en solución salina y recoger la muestra frotando vigorosamente la base de la lesión.

D.- Transporte y conservación

- Torunda con medio de transporte: < 24 horas a T^a 2-8 °C.

9.2. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO

9.2.1. EXUDADOS URETRALES

A.- Material necesario

- Torundas uretrales *finas* con medio de transporte líquido tipo Amies (eSwab tapón naranja).
- Gasas estériles.



B.- Obtención de la muestra

- Cuando exista exudado franco puede recogerse con una torunda. El exudado puede estimularse exprimiendo la uretra.
- Cuando no se obtenga exudado se introducirá una torunda suavemente hasta penetrar unos 2-4 cm dentro de la uretra y dejar al menos 2 segundos para facilitar la absorción.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Se obtendrán torunda destinada al estudio microscópico y cultivo y a la biología molecular.

D.- Transporte y conservación

- Lo más aconsejable es su envío en <15 minutos a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.

E.- Observaciones

- La muestra ha de recogerse preferentemente antes de la primera micción de la mañana, si no es posible, se deberá esperar al menos 2 horas tras la última micción para recogerla.

9.2.2. ORINA PARA ESTUDIO DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* Y *NEISSERIA GONORRHOEAE*

A.- Material necesario:

Recipiente limpio y seco (sin conservantes).



B.- Obtención de la muestra:

El paciente no debe orinar por lo menos 2 horas antes de recoger la muestra y se deben RECOGER del principio de la micción.

C.- Número de muestras y/o volumen:

De 10-20 ml en recipiente limpio y seco. La recolección de un volumen superior a 20 ml diluye la muestra y puede afectar a la sensibilidad del estudio.

D.- Transporte y conservación:

El envío no debe superar las 6 horas a temperatura ambiente y < 24 horas en nevera de 2-8°C .

9.2.3. EXUDADOS RECTALES

Ver apartado 9.1.4

9.2.4. GANGLIOS LINFATICOS INGUINALES

Ver apartado 9.1.11

9.2.5. LESIONES CUTANEOMUCOSAS PARA CAMPO OSCURO (CHANCROS)

Ver apartado 9.1.10

9.2.6. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE PROSTATITIS

A.- Material necesario

- Idéntico material que para urocultivo (ver apartado 4).
- Cuatro contenedores estériles identificados de la siguiente forma:
 - F-1 o Frasco 1: primera orina.
 - F-2 o Frasco 2: micción media premasaje.
 - F-3 o Frasco 3: masaje prostático o semen.
 - F-4 o Frasco 4: orina post-masaje.



B.- Obtención de la muestra (Técnica de Meares-Stamey)

- Retraer el prepucio y limpiar el meato y el glande igual que para urocultivo.
- El paciente orina y se recogen los 10ml primeros en el F-1.
- Sigue orinando (desechando aproximadamente 200 ml de orina) y se recogen los segundos 10ml en el F-2 (micción media).
- Interrumpir la micción antes de que se haya vaciado totalmente la vejiga.
- Realizar un masaje prostático y recoger el fluido en el F-3. Si no se produce fluido, presionar la uretra en su totalidad durante 30 segundos. Tras el masaje, saldrá fluido prostático por el meato.
- Finalmente el paciente orinará, recogiéndose 10ml en el F-4 (orina post-masaje).

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Frasco 1: 10ml.**
- **Frasco 2: 10ml.**
- **Frasco 3: toda la muestra que se obtenga.**
- **Frasco 4: 10ml.**

D.- Transporte y conservación

- **Las muestras deberán procesarse en < 1 hora.**

- **Para períodos más prolongados las orinas se conservarán en medios de transporte para orinas (ver apartado urocultivos) o refrigeradas a +4°C y el fluido prostático/semen se conservará en nevera a + 4°C durante un período máximo de 24 horas.**

E.- Observaciones

- Se realizarán cultivos cuantitativos. Cuando el número de bacterias del frasco 1 es mayor al del frasco 2 y frasco 4, se considera que las bacterias son de origen uretral.
- Cuando el número de bacterias de los frascos 3 y 4 es, por lo menos, 10 veces superior al de los frascos 1 y 2, se atribuye a colonización prostática.
- Las muestras de semen no son adecuadas para cultivo, al estar sistemáticamente contaminadas, y los resultados obtenidos no son representativos de los microorganismos aislados en próstata.
- Cuando se requiera el estudio de microorganismos inusuales (*N. gonorrhoeae*, hongos, anaerobios, etc.), deberá solicitarse expresamente en el volante de petición.

9.3. MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE CHLAMYDIA Y MICOPLASMAS

9.3.1. MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS

A.- Material necesario

- Mujeres: ver apartado 9.1.2. (exudados endocervicales).
- Varones: ver apartado 9.2.1. (orina), 9.2.1. (uretral).

B.- Obtención de la muestra

- Mujeres: ver apartado 9.1.2. (exudados endocervicales).
- Varones: ver apartado 9.2.1. (orina), 9.2.1. (uretral).
- La muestra se recogerá mediante frotado o raspado enérgico de la zona afectada, siguiendo las instrucciones específicas descritas para cada localización.

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Mujeres. Generalmente es suficiente con una torunda destinada exclusivamente a la detección de *Chlamydia*.**
- **Varones: Orina de 10 ml en recipiente limpio y seco.**

D.- Transporte y conservación

- **24-48h a temperatura de 2-8°C.**

9.3.2. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE MICOPLASMAS.

A.- Material necesario

- Mujeres: ver apartado 9.1.2. (exudados endocervicales).
- Varones: ver apartado 9.2.1. (exudados uretrales).
- Torundas con medio de transporte líquido Amies

B.- Obtención de la muestra

- **Mujeres: ver apartado 9.1.2. (exudados endocervicales).**
- **Varones: ver apartado 9.2.1. (exudados uretrales).**

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Generalmente es suficiente con una torunda destinada exclusivamente a este estudio.**

D.- Transporte y conservación

- Conservar < 24 horas a temperatura ambiente. Para períodos mas prolongados deberán congelarse a -70°C .

10. EXUDADOS OCULARES

10.1. Exudado palpebral

10.2. Muestras del aparato lacrimal:

10.2.1. Dacriocistitis

10.2.2. Dacrioadenitis

10.2.3. Canaliculitis

10.3. Celulitis preseptal y orbital

10.4. Exudado conjuntival

10.5. Raspado corneal

10.6. Líquidos intraoculares

10.6.1. Humor acuoso

10.1 EXUDADO PALPEBRAL

A.- Material necesario

- Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Suero salino estéril.

B.- Obtención de la muestra

- Frotar con la torunda previamente humedecida con solución salina estéril a lo largo del margen superior e inferior del párpado afectado con el ojo cerrado.
- Se recomienda también la toma de muestras del ojo no afectado para comparación en la interpretación de los resultados.
- Es importante especificar a qué ojo corresponde cada muestra tomada.

C.- Transporte y conservación

- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

10.2. MUESTRAS DEL APARATO LACRIMAL

A.- Material necesario

- Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Agujas y jeringas estériles.
- Suero salino estéril.
- Vial de transporte para anaerobios.

B.- Obtención de la muestra.

10.2.1. Dacriocistitis

- El exudado del saco lacrimal se obtiene por presión en el conducto o en el saco lacrimal para drenar la secreción purulenta que se recoge con aguja y jeringa o con un hisopo de dacrón o de alginato cálcico.

- En caso de dacriocistorrinostomía clínicamente indicada, la muestra se puede obtener en el procedimiento quirúrgico, aspirando el absceso con aguja y jeringa.
- Se recomienda también la toma de muestras conjuntivales.

10.2.2. Dacrioadenitis

- Las muestras de exudados de la glándula lacrimal se recogen frotando una torunda por la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix, recogiendo las secreciones con una torunda de dacrón o de alginato cálcico.
- Dada la presencia habitual de microbiota comensal se recomienda la toma de muestras de la conjuntiva contralateral no involucrada para comparación.
- Si se forma un absceso en la glándula lacrimal se puede obtener la muestra quirúrgicamente por aspiración con aguja y jeringa.
- En la inflamación crónica de la glándula lacrimal se puede obtener una biopsia de esta glándula.

10.2.3. Canaliculitis

- Las muestras se recogen presionado el párpado y el canaliculo para drenar el material purulento. Una vez extraído este material, se recoge con una torunda de dacrón o de alginato cálcico, con aguja y jeringa.
- También se puede aspirar el material obtenido durante una canaliculotomía.

C.- Transporte y conservación

- Las muestras recogidas por punción pueden remitirse en la misma jeringa de aspiración protegida con aguja estéril con su protector lo antes posible: envío en < 15 minutos a temperatura ambiente.
- Si el envío no es inmediato, se deben inocular en un contenedor estéril con medio de transporte para anaerobios: envío en < 24 horas a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

10.3. CELULITIS PRESEPTAL Y ORBITAL

A.- Material necesario

- Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Aguja y jeringas estériles.
- Suero salino estéril.
- Vial de transporte para anaerobios.

B.- Obtención de la muestra.

- Si hay herida abierta se puede recoger el exudado de la misma aspirando con aguja y jeringa. En el caso de la formación de un absceso palpebral, tras desinfectar la piel se puede realizar una punción con aguja y jeringa en el punto de máxima fluctuación.
- Si la celulitis es secundaria a infección sinusal puede obtenerse muestra de los senos paranasales por punción y aspiración durante la cirugía o por endoscopia, no siendo útil el exudado del seno por vía nasal por estar contaminado con la microbiota respiratoria normal.
- Si se precisa drenaje quirúrgico se enviarán muestras del exudado en vial de transporte para anaerobios y de tejido en un contenedor estéril con solución salina.
- La biopsia de tejido nasal es esencial para el diagnóstico microbiológico de la mucormicosis.

C.- Transporte y conservación

- Las muestras recogidas por punción pueden remitirse en la misma jeringa de aspiración protegida con aguja estéril con su protector lo antes posible: envío en < 15 minutos a temperatura ambiente.
- Si el envío no es inmediato, se deben inocular en un contenedor estéril con medio de transporte para anaerobios: envío en < 24 horas a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

10.4. EXUDADO CONJUNTIVAL

- El diagnóstico microbiológico de las conjuntivitis infecciosas no suele ser necesario siendo suficiente el diagnóstico clínico. Excepciones en las que sí está indicado hacer un diagnóstico etiológico:
 - Conjuntivitis neonatal (aquella que se presenta en las 4 primeras semanas de vida)
 - Conjuntivitis graves, recurrentes o refractarias a la medicación
 - Conjuntivitis crónica purulenta.
- Son de petición especial la investigación de *Neisseria gonorrhoeae* y de *Chlamydia trachomatis*.

A.- Material necesario

- Torundas finas flexibles con varilla de alambre con medio de transporte amies líquido (sistema eSwab®)
- Suero salino estéril.



B.- Obtención de la muestra

- La muestra debe obtenerse antes de la instilación de analgésicos locales, colirios o antibióticos.
- **Debe obtenerse una muestra de cada ojo con torundas separadas y bien diferenciadas.** Es importante especificar a qué ojo corresponde la muestra tomada. En caso de afectación de los dos ojos, se recogerá una muestra de cada ojo, cada una irá con un número de petición y se procesarán de manera independiente. Se recomienda la toma de muestras conjuntivales de ambos ojos incluso en el caso de conjuntivitis unilateral. La comparación del crecimiento microbiano del ojo no afectado con el del ojo afectado puede facilitar en algunos casos la determinación del agente etiológico.
- Con una torunda mojada en suero fisiológico frotar sobre la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix. Durante la toma de la muestra se debe evitar el contacto con el borde del párpado para no contaminar la muestra con la microbiota comensal.
- Está indicado solicitar una **tinción de Gram** en los casos de conjuntivitis hiperaguda y de oftalmia neonatorum para ello se deberán recoger dos torundas, una se conservará en medio de transporte para el cultivo y una segunda muestra que se enviará al laboratorio sin medio de transporte para el examen microscópico.

C.- Transporte y conservación

- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

E.- Observaciones

- Los cultivos preoperatorios de conjuntiva no son útiles. El número y tipo de microorganismos de la conjuntiva normal varía diariamente, por lo que estas muestras no son válidas, excepto en el caso de signos inflamatorios a nivel ocular.

10.5. RASPADO CORNEAL

A.- Material necesario

- Espátula de platino flexible de Kimura esterilizada, aguja estéril o una hoja de bisturí nº 15 con mango Bard-Parker.
- Anestésico local (clorhidrato de propacaína)
- Torundas finas flexibles con varilla de alambre con medio de transporte amies líquido(sistema eSwab®).
- Si la siembra se hace en la consulta del oftalmólogo, el laboratorio debe proporcionar los medios de cultivo justo antes de cada toma de muestra, que según el protocolo habitual incluyen **agar sangre, agar chocolate, agar Saboreaud-cloramfenicol y caldo thioglicolato** para los “Cultivos Aerobio, Anaerobio y Hongos”.
- Para **otros cultivos y tinciones de petición especial** se solicitará el siguiente material al laboratorio:

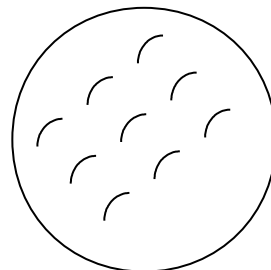
- Para la “**Tinción de gram**” se solicitará un portaobjetos (preferiblemente con círculo marcado) para la realización de una extensión.
- Para el “**Cultivo de micobacterias**” se pedirá un tubo de Coletos.
- Para el “**Examen parasitológico**” (sospecha de *Acanthamoeba*) se requiere un portaobjetos (preferiblemente con círculo marcado) para realizar una extensión para tinción de amebas (blanco calcofluor). En este caso, también se debe remitir a Microbiología una torunda adicional eSwab® en medio de transporte para detección molecular de *Acanthamoeba spp* (Anexo I-A para envío a laboratorio externo)

B.- Obtención de la muestra

- Instilar una o dos gotas de anestésico. Preferiblemente se utilizará clorhidrato de propacaína, ya que es el anestésico local que inhibe menos el crecimiento bacteriano. Para evitar contaminaciones, los párpados deben estar totalmente separados durante la recogida.
- No hay una recomendación estándar sobre el procedimiento para la toma de muestras. Se debe raspar tanto el centro del área inflamada de la úlcera como los bordes, realizando golpes cortos y moderadamente firmes en una dirección.
- Si la siembra se hace en la consulta del oftalmólogo, cada raspado se emplea para inocular un medio de cultivo o para realizar una extensión en porta. Generalmente se obtiene muy poco material por el riesgo de adelgazamiento de la córnea o perforación, por ello es necesario priorizar.
- Alternativamente, cuando no hay acceso a sembrar directamente los medios de cultivo, se ha propuesto realizar una sola toma con torunda con medio de transporte líquido(sistema eSwab®).

C.- Número de muestras y/o volumen

- Medios de cultivo previamente inoculados.
- Torunda en medio de transporte líquido



D.- Transporte y conservación

- Los medios de cultivo previamente inoculados deben enviarse de inmediato: < 15 minutos a temperatura ambiente
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente

E.- Observaciones

- **Lentes de contacto, estuches y soluciones de mantenimiento.** El estudio de las lentes de contacto, su estuche o soluciones de mantenimiento, pueden aportar información importante en el caso de las **infecciones por amebas**. Si las lentes están situadas en el ojo, se recogerán asépticamente con guantes estériles y se introducirán en un frasco estéril con una pequeña cantidad de suero fisiológico estéril. Los estuches y soluciones de mantenimiento de las lentes de contacto del paciente se reciben y sin ninguna manipulación previa se envían al laboratorio (Anexo I-A para envío a laboratorio externo)

10.6. LÍQUIDOS INTRAOCULARES

10.6.1. Humor acuoso

A.- Material necesario

- Jeringa y aguja de insulina.
- Povidona yodada al 5%.
- Lidocaína al 2%

B.- Obtención de la muestra

- Se obtiene por paracentesis de la cámara anterior, puede obtenerse en la propia consulta bajo la lámpara de hendidura.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Entre 0,1-0,2 ml.
- Se deben priorizar los estudios solicitados en base a la sospecha clínica:
 - Para cultivos bacterianos aerobio, anaerobio y/o cultivo de hongos: El rendimiento del humor acuoso en estos casos es variable, pero mucho menor que el del humor vítreo, especialmente en endoftalmitis crónicas y fúngicas.
 - Para PCR múltiple. La sensibilidad de la PCR para grupo herpes en humor acuoso se estima superior al 90% con casi un 100% de especificidad (volumen mínimo 0,1 ml)

D.- Transporte y conservación

- Las jeringas utilizadas para la toma de los aspirados de la cámara anterior pueden utilizarse como medio de transporte eliminando el aire en una gasa impregnada con alcohol, pero siempre con un capuchón estéril.
- Las muestras se deben recibir en el laboratorio dentro de los 30 minutos tras su extracción. Si no se pueden lograr estos tiempos para el transporte, las muestras deben almacenarse a temperatura ambiente no más de 24 horas.

10.6.2. Humor vítreo

A.- Material necesario

- Colirio de lidocaína al 2%
- Povidona yodada al 5%
- Agujas y jeringas estériles
- **Frasco de hemocultivo pediátrico**
- **Material vitrectomía**

B.- Obtención de la muestra

- Por punción-aspiración con aguja y jeringa para obtener una biopsia vítrea.
- Por vitrectomía vía pars plana (vitrectomo).

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Muestra vítrea no diluida: 0,2-0,3 ml.**
- **Muestra vítrea diluida: 50 a 100 ml**

D.- Transporte y conservación

- Las jeringas utilizadas para la toma de los aspirados del humor vítreo pueden utilizarse como medio de transporte eliminando el aire en una gasa impregnada con alcohol, pero siempre con un capuchón estéril.
- También puede inocularse la mitad de la muestra directamente en un frasco de hemocultivo pediátrico y enviarse el resto para examen microscópico y cultivos adicionales o PCR si es necesario.
- **Las muestras de vítreo diluido se pueden enviar en el cassette de vitrectomia o en un envase estéril.**
- **Las muestras se deben recibir en el laboratorio dentro de los 30 minutos tras su extracción. Si no se pueden lograr estos tiempos para el transporte, las muestras deben almacenarse a temperatura ambiente no más de 24 horas.**

11. EXUDADOS ÓTICOS

11.1. OÍDO EXTERNO



A.- Material necesario

- Torundas de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Un antiséptico suave (ej. Cloruro de Benzalconio al 1/100).

B.- Obtención de la muestra

- Limpiar el oído externo con un antiséptico suave utilizando una torunda para eliminar cualquier detritus existente en el canal del oído.
- La toma se realizará mediante frotis con otra torunda, raspado o aspiración del fluido en caso de abscesos.
- Se obtendrá la muestra del borde activo y el exudado o las secreciones de las zonas profundas.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Una torunda para cada oído.

D.- Transporte y conservación

- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

E.- Observaciones

- Suele tratarse de muestras de mala calidad y en ningún caso resultan representativas de los microorganismos existentes en oído medio.

11.2. OÍDO MEDIO

A.- Material necesario

- Material necesario para miringocentesis (Timpanocentesis).
- Torundas de algodón con medio de transporte para anaerobios y sin medio de transporte.
- Contenedor estéril de cierre hermético.
- Povidona yodada al 10%.

B.- Obtención de la muestra

- Debe obtener la muestra un especialista en O.R.L.
- **Timpanocentesis:**
 - Se limpiará el canal auditivo externo con una torunda impregnada de Povidona yodada al 10%.
 - Se puncionará el tímpano a través de un otoscopio estéril.
 - La muestra se enviará en un contenedor estéril de cierre hermético si su envío es inmediato o en un medio de transporte para anaerobios si su envío va a ser diferido.
- **Muestras con tímpano roto:**
 - Tras la limpieza del canal auditivo externo, se tomará la muestra con torunda a través de un otoscopio estéril.
 - Estas muestras no son válidas para cultivo de anaerobios, además el fluido suele colonizarse con flora del conducto auditivo externo, con lo que la interpretación de los resultados es siempre complicada.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Timpanocentesis: la mayor cantidad de exudado que sea posible
- Muestras con tímpano roto: una torunda para cultivo.

D.- Transporte y conservación

- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

12. PIEL Y TEJIDOS BLANDOS

12.1. ÚLCERAS Y HERIDAS ABIERTAS

- La muestra de elección es una muestra del borde de avance de la lesión, no el exudado o pus que cubre la herida.
- Descontaminar la lesión retirando el material superficial antes de tomar una muestra. Limpiar la superficie de la herida con agua o suero fisiológico, y luego tomar una muestra de la base o el borde de avance de la lesión.
- Preferiblemente, tomar una biopsia o aspirar el líquido inflamatorio producido por la herida con una aguja fina. Si ello no es posible o conveniente, tomar la muestra con un escobillón con medio de transporte líquido para cultivo bacteriano.
- No se recomienda el cultivo de lesiones secas y costrosas, a no ser que haya exudado.
- No solicitar el cultivo anaerobio de muestras superficiales.
- Las úlceras están siempre colonizadas por flora bacteriana polimicrobiana. Tomar una muestra para cultivo sólo si hay signos y/o síntomas de infección.
- Indicar en la petición el tipo de lesión y su localización anatómica.
- Transporte y conservación de la muestra:
 - Tiempo recomendado de transporte al laboratorio: ≤ 2 horas a temperatura ambiente.
 - Si el envío se va a demorar más de 2 horas, refrigerar la muestra.

A.- Material necesario

- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.
- Torundas de algodón con medio de transporte tipo de Stuart-Amies.
- Jeringa y agujas estériles.



B.- Obtención de la muestra

- Lavar cuidadosamente la superficie de la herida.
- Recoger el pus mediante jeringa y aguja aspirando preferentemente de zonas profundas ó de los bordes.
- Cuando la muestra obtenida sea insuficiente, instilar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y aspirarlo nuevamente en la jeringa.
- Cuando el procedimiento anterior no sea factible, se efectuará un frotis de las partes profundas de la herida con una torunda.



C.- Número de muestras y/o volumen

- Muestras líquidas: 1-10 ml.

D.- Transporte y conservación

- Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservada a temperatura ambiente.

E.- Observaciones

- Las muestras obtenidas con jeringa, cuyo envío al laboratorio sea inmediato, se mandarán en la misma jeringa de extracción.
- Las muestras obtenidas con torunda son de escasa rentabilidad y deben obtenerse sólo en circunstancias muy excepcionales, cuando no se pueda recoger la muestra por otros métodos.

12.2. ABSCESOS CERRADOS

- Descontaminar la piel con desinfectante y realizar una punción-aspiración del contenido del absceso con jeringa y aguja.
- Transferir el aspirado a un tubo/recipiente estéril o, en especial si la muestra es escasa, enviar la jeringa sustituyendo la aguja por un tapón.
- Enviar al laboratorio en menos de dos horas tras la obtención (transporte a temperatura ambiente).
- Si el envío se va a demorar más de 2 horas, introducir el aspirado en un vial de transporte para anaerobios.
- Indicar en la petición la localización anatómica del absceso.

A.- Material necesario

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.



- Povidona yodada al 10%.
- Jeringa y agujas estériles.
- Medio de transporte para cultivo de anaerobios.
- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.

B.- Obtención de la muestra

- Desinfectar la piel. Limpiar la zona con alcohol etílico o isopropílico al 70%, de forma concéntrica comenzando por el centro. Abarcar una zona de unos 10 cm.
- Repetir la operación con Povidona yodada al 10%. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, se utilizará alcohol dos veces consecutivas.
- Dejar secar al menos 1 minuto para que la Povidona ejerza su acción antiséptica.
- Realizar una punción-aspiración del absceso con jeringa y aguja.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Deberá enviarse un volumen de muestra entre 1–5ml.

D.- Transporte y conservación

- Muestras sin medio de transporte: < 15 minutos a temperatura ambiente.
- Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservada a temperatura ambiente.

E.- Observaciones

- Las muestras cuyo envío al laboratorio sea inmediato se mandarían en la misma jeringa de extracción.
- Es muy importante especificar en el volante de petición la localización del absceso con vistas a la interpretación de los resultados.

12.3 CELULITIS

- Limpiar la zona con suero fisiológico o alcohol de 70°.
- Aspirar el área de inflamación con jeringa y aguja fina. Si esto no es productivo, inyectar una pequeña cantidad de suero fisiológico y aspirar. Luego quitar la aguja de la jeringa y sustituirla por un tapón.
- Enviar al laboratorio (a temperatura ambiente) lo antes posible, preferiblemente en 1 hora tras la obtención.
- Si el envío se va a demorar más de 1 hora, refrigerar la muestra.
- Indicar en la petición la localización anatómica de la lesión.

12.4 PÚSTULAS O VESÍCULAS

- Aplicar alcohol sobre una pústula intacta y dejar secar.
- Si la pústula es grande, se puede tomar una muestra del contenido por punción-aspiración. Luego quitar la aguja de la jeringa y sustituirla por un tapón.
- En otro caso, retirar la piel de la pústula con una aguja y recoger el fluido y células de la base rotando un escobillón sobre la base de la pústula.
- Si la lesión tiene costra, ésta debe retirarse y tomar una muestra de la base húmeda con un escobillón con medio de transporte líquido para cultivo bacteriano.
- Enviar al laboratorio (a temperatura ambiente) en menos de 2 horas tras la obtención.
- Si el envío se va a demorar más de 2 horas, refrigerar la muestra.
- Indicar en la petición la localización anatómica de la lesión.

13. CATÉTERES Y DRENAJES

13.1. CATÉTERES INTRAVASCULARES

A.- Material necesario

- Guantes de goma estériles.
- Gasas estériles.
- Pinzas y tijeras estériles.
- Recipiente estéril con tapa de rosca y cierre hermético.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Alcohool yodado al 1-2 % o un yodóforo al 10%.



B.- Obtención de la muestra

- Desinfectar con alcohol una zona de piel de unos 10cm correspondiente a la zona de entrada del catéter. Hacerlo en forma de círculos concéntricos comenzando por el centro.
- Repetir la misma operación, pero con el alcohol yodado o el yodóforo, dejando que se seque durante 1 minuto.
- Retirar el catéter con la máxima asepsia.
- Ayudándonos de pinzas y tijeras estériles, cortar los 5cm distales del catéter que corresponden a la porción intravascular.
- Introducir el segmento de catéter en un recipiente estéril e identificarlo correctamente.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Enviar 5 cm de la porción más distal.

D.- Transporte y conservación

- Envío inmediato al laboratorio: en < 15 minutos.
- Cuando ésto no sea posible: < 24 horas y deberá conservarse la muestra refrigerada a 4°C.

13.2. OTROS CATÉTERES Y DRENAJES

Son muestras que no se procesan habitualmente en la mayoría de los laboratorios, por lo que se recomienda contactar con el Servicio de Microbiología, previo al envío de dichas muestras.

14. BIOPSIAS/TEJIDOS

- Tomar una muestra de tejido afectado pero viable, excluyendo las zonas necrosadas.
- Volumen recomendado de la muestra: 5-10 mm³.
- Enviar en un contenedor estéril.
- Si la muestra es pequeña añadir unas gotas de suero fisiológico para evitar la desecación.
- Enviar al laboratorio lo antes posible, y antes de 2 horas desde la obtención.
- Si el envío se va a demorar más de 2 horas, introducir el tejido en un vial de transporte para anaerobios de boca ancha o refrigerar la muestra.
- No introducir las muestras en formol ni otras sustancias que puedan inhibir el crecimiento de microorganismos.
- Indicar en la petición el tipo de tejido y su localización anatómica.

A.- Material necesario

- El material quirúrgico estéril que precise la técnica empleada para la obtención de las biopsias de distintas localizaciones.
- Recipientes estériles con tapa de rosca y cierre hermético.

- Suero salino estéril.
- Jeringas y agujas estériles.
- Sistemas de transporte para anaerobios.



B.- Obtención de la muestra

- Muestras sólidas:
 - Se obtendrá un bloque de tejido por escisión quirúrgica procurando incluir las zonas más afectadas.
 - Cuando las lesiones estén bien delimitadas se intentará incluir también el borde activo de la lesión.
- Muestras líquidas:
 - Se obtendrán por aspiración con jeringa y aguja siguiendo técnicas estrictamente asépticas.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Muestras sólidas: se recomienda obtener una pieza de 5-10mm³
- Muestras líquidas: 1-10ml.

D.- Transporte y conservación

- Las muestras sólidas se introducirán en un recipiente estéril con tapa de rosca y cierre hermético, al que pueden añadirse una gotas de suero salino estéril para prevenir la desecación de las muestras de pequeño tamaño.
- Las muestras líquidas se enviarán en la misma jeringa de obtención protegida con aguja estéril con su protector.
- El envío de estas muestras debe ser inmediato: < 15 minutos a temperatura ambiente. Si el envío se retrasa se introducirán en un recipiente para transporte de anaerobios: <24 horas conservadas a temperatura ambiente.

E.- Observaciones

- Es muy importante no introducir las muestras en formol ni otras sustancias que puedan inhibir el crecimiento de microorganismos, ni utilizar recipientes de dudosa esterilidad.
- Dado que estas muestras suelen ser de extrema importancia, difícil obtención, con riesgos y molestias para el paciente, y en muchas ocasiones son insustituibles, es recomendable que antes de iniciar el procedimiento se establezca contacto con el Servicio de Microbiología para evitar posibles errores y orientar las investigaciones posteriores con relación a las distintas sospechas clínicas.
- Evitar la desecación de la muestra.

15. NECROPSIAS

A.- Material necesario

- Material quirúrgico estéril.
- Recipientes estériles con tapa de rosca y cierre hermético.
- Suero salino estéril.
- Jeringas y agujas estériles.
- Frascos de hemocultivos para muestras de sangre.



B.- Obtención de la muestra

- Las muestras se recogerán preferentemente antes de que el cadáver se manipule demasiado o se abra.
- La piel o las superficies serosas de los órganos deben desinfectarse antes de realizar punciones o extraer bloques de tejidos. Para esto pueden seguirse los procedimientos generales de desinfección, utilizando consecutivamente alcohol etílico o isopropílico al 70% y Povidona yodada al 10%, o bien, cauterizar mediante una espátula al rojo.
- Muestras sólidas:
 - Se enviará una cuña de unos de 5-10 cm³, que incluya una superficie serosa o capsular intacta.
- Muestras líquidas:
 - Se obtendrán por aspiración con jeringa y aguja siguiendo técnicas estrictamente asépticas.
- Muestras de sangre:
 - Se obtendrán por punción-aspiración de cavidades cardíacas derechas.
 - La sangre así obtenida se inoculará en los frascos de hemocultivos siguiendo las instrucciones del apartado correspondiente.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Muestras sólidas: se recomienda obtener una pieza de 5-10mm³.
- Muestras líquidas: 5-10ml.
- Muestras de sangre: 5-10ml.

D.- Transporte y conservación

- Las muestras deberán transportarse en recipientes estériles con cierre hermético, que no contengan formol ni otras sustancias inhibidoras.
- Cuando el envío de las muestras no pueda ser inmediato, las muestras deberán ser conservadas refrigeradas durante < 24 horas.
- Frascos de hemocultivo: ver instrucciones en apartado correspondiente.

E. Observaciones

- Los cultivos de muestras de autopsias se contaminan con frecuencia con bacterias del agua o entéricas, lo que debe tenerse en cuenta en la interpretación de los resultados.
- Para la investigación de hongos, micobacterias, etc., deberán seguirse los procedimientos específicos descritos en sus respectivos apartados.

16. MÉDULA ÓSEA

A.- Indicaciones

- Infecciones fúngicas: histoplasmosis, criptococosis, candidiasis diseminada.
- Infecciones bacterianas: brucelosis. Tuberculosis.
- Infecciones parasitarias: leishmaniasis

B.- Material necesario

- Guantes estériles.
- Gasas estériles.
- Material para anestesia local.
- Material para punción ósea.
- Povidona yodada al 10%.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Tubos estériles con presión negativa con heparina, sin conservantes.

C.- Obtención de la muestra

- Localización: la punción se realiza fundamentalmente en el esternón (alternativas válidas: cresta ilíaca, apófisis vertebrales y en niños meseta tibial).
- Descontaminar la piel: desinfectar con alcohol una zona de piel de unos 10cm correspondiente a la zona de entrada. Hacerlo en forma de círculos concéntricos comenzando por el centro. Repetir la misma operación, pero con el alcohol yodado o el yodóforo, dejando que se seque durante 1 minuto.
- Previa anestesia local, fundamentalmente en adultos, se realiza la aspiración estéril de la médula ósea.

D.- Número de muestras y/o volumen

- **Volumen >1ml.**
- Infecciones fúngicas: **tubo con heparina (tapón verde).**
- Infecciones bacterianas (brucelosis): **inocular la muestra en frascos de hemocultivos.**
- Infecciones micobacterias (tuberculosis): **tubo con heparina (tapón verde).**
- Infecciones parasitarias (leishmania): **tubo con heparina (tapón verde) o tubo estéril sin aditivos.**

E.-Transporte y conservación

- Envío inmediato al laboratorio.

17. ESTUDIO DE MICROORGANISMOS ESPECIALES

- 17.1. Anaerobios**
- 17.2. Micobacterias**
- 17.3. Hongos**
- 17.4. Parásitos**

17.1. ANAEROBIOS

La mayoría de las infecciones por bacterias anaerobias son oportunistas y de origen endógeno, es decir, están producidas por la propia flora cutáneo-mucosa del hospedador. Por esta razón, las muestras se tomarán siguiendo procedimientos que eviten su contaminación por esta flora autóctona. En caso contrario sería imposible en la mayoría de las circunstancias, diferenciar los agentes etiológicos de los microorganismos componentes de la flora. Como estas infecciones son generalmente mixtas habrá que investigar además la presencia de anaerobios facultativos.

17.1.1. Tipos de muestras

- Para el estudio de anaerobios es preferible obtener muestras por punción-aspiración o biopsias de tejidos. Cuando esto no sea posible, se podrá tomar una muestra con un escobillón con medio de transporte líquido para cultivo bacteriano.
- Son muestras válidas cualquier fluido o tejido procedente de localizaciones habitualmente estériles.
- En general no son válidas las muestras de zonas superficiales.

MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Sistema Nervioso Central - Biopsia quirúrgica, Hisopos con medio de transporte obtenidos	- Aspirado de abscesos o empiema subdural	- Hisopos sin medio de transporte.

	en una intervención quirúrgica, LCR	
Cabeza y Cuello	- Aspirado de abscesos o colecciones. - Biopsia quirúrgica - Hisopos con medio de transporte obtenidos en una intervención quirúrgica	- Hisopos faríngeos o nasofaríngeos - Otros materiales superficiales tomados con hisopos (bucales, óticos, etc.)
Pulmonar-Pleural	- Biopsia pulmonar o PAAF - Líquido pleural - Cepillado bronquial - Hisopos obtenidos en una intervención quirúrgica y transportados en medio para anaerobios	- Esputo y esputo inducido - Aspirado endotraqueal - BAS y BAL
Aparato Circulatorio	- Sangre - Líquido pericárdico - Tejido de válvula cardíaca	

MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Abdomen	- Aspiración percutánea de líquido abdominal - Aspiración de abscesos vía quirúrgica o percutánea con control TCA o ultrasonidos - Biopsia quirúrgica - Hisopos con medio de transporte obtenidos en una intervención quirúrgica - Bilis obtenida quirúrgicamente	- Hisopos sin medio de transporte. - Tomas superficiales con hisopos
Estómago e Intestino delgado	Sólo para: - Síndrome asa ciega - Síndrome mala absorción - Intoxicación botulínica	
Intestino grueso	- Heces solo para detección de toxinas de <i>C. difficile</i>	- Heces - Efluentes de ileostomía - Efluentes de colostomía
Vías urinarias	- Orina de punción suprapúbica - Nefrostomía	- Orina por micción - Orina por sondaje

MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
--------------	--------------------	----------------------

Aparato Genital	<ul style="list-style-type: none"> - Líquido peritoneal obtenido por culdocentesis o laparoscopia - Aspirado endometrial obtenido por succión o por colector protegido <ul style="list-style-type: none"> - Biopsia quirúrgica - Aspiración de abscesos - Hisopos con medio de transporte obtenidos en una intervención quirúrgica - DIU para detección de <i>Actinomyces</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Hisopos vaginales - Hisopos cervicales - Hisopos uretrales
Hueso	<ul style="list-style-type: none"> - Aspiración profunda a través de la piel - Biopsia quirúrgica 	- Hisopos de material superficial
Articulación	<ul style="list-style-type: none"> - Aspiración percutánea de líquido articular 	
Tejidos blandos	<ul style="list-style-type: none"> - Aspiración percutánea de heridas abiertas, úlceras y abscesos <ul style="list-style-type: none"> - Biopsia quirúrgica - Aspirado profundo de fístulas y heridas profundas con jeringa o catéter - Tejidos de úlceras o heridas obtenidas por raspado - Hisopos con medio de transporte obtenidos en una intervención quirúrgica 	<ul style="list-style-type: none"> - Material superficial de piel, mucosas, úlceras, escaras, heridas o fístulas

17.1.2. Material necesario

- Ver material necesario en apartado correspondiente, según tipo de muestra.

17.1.3. Obtención de la muestra

- Ver apartado correspondiente, según tipo de muestra.

17.1.4. Número de muestras y/o volumen

- Muestras líquidas: enviar un volumen de 1 – 10ml. Cuando se empleen tubos de tapón de rosca procurar llenarlos al máximo.
- Tejidos: aproximadamente 1 cm³.
- Muestras tomadas con hisopos: hay que recoger la máxima cantidad de exudado que sea posible.

17.1.5. Transporte y conservación

- El transporte debe realizarse lo antes posible al laboratorio. Si se demora más de 2 horas se deben utilizar los siguientes contenedores:
 - **Viales con** atmósfera anaerobia y base de agar (en el que se incluye un indicador de anaerobiosis). Los viales sirven para el transporte de abscesos, los cuales se inyectan previa desinfección del tapón de goma, evitando introducir aire.

- **Frascos de boca ancha con medio de transporte.** Los tejidos se introducen en el medio de transporte, es importante mantener vertical el frasco (pues los gases empleados para conseguir la atmósfera son más pesados que el aire, y así se impide la penetración de éste manteniendo el estado de reducción).

▪ Las muestras se mantendrán a temperatura ambiente, la refrigeración disminuye el número de microorganismos viables. Solamente LCR se mantendrán en estufa.

17.2 MICOBACTERIAS

17.2.1 Normas generales

17.2.2. Muestras de origen respiratorio

17.2.2.1. Esputo

17.2.2.2. Jugo gástrico

17.2.2.3. Muestras respiratorias obtenidas por fibrobroncoscopia

17.2.2.4. Muestras obtenidas por abordaje percutáneo

17.2.2.5. Biopsia y líquido pleural

17.2.3. Muestras extrapulmonares

17.2.3.1. Orina

17.2.3.2. Líquido cefalorraquídeo

17.2.3.3. Otros líquidos orgánicos

17.2.3.4. Sangre (Detección Quantiferon-TB Gold)

17.2.3.5. Biopsias

17.2.3.6. Médula ósea

17.2.3.7. Heces

17.2.3.8. Abscesos

17.2.1. NORMAS GENERALES

- En todo momento se adoptarán las medidas necesarias para evitar que las muestras contaminen el ambiente o las personas.
- Los envases empleados serán estériles y de cierre hermético.
- No se añadirá a la muestra ninguna sustancia conservadora ni antiséptica.
- Se mantendrá protegida de la luz y el calor.
- La temperatura ideal para su conservación es de 4°C.

- Evitar la contaminación del material necesario para la toma de muestras con agua del grifo u otros líquidos que puedan contener micobacterias ambientales.
- Las muestras obtenidas con torunda no son recomendables.

17.2.2. MUESTRAS DE ORIGEN RESPIRATORIO

17.2.2.1. ESPUTO

A.- Material necesario

- Envase estéril de boca ancha y hermético.
- Suero fisiológico estéril y nebulizador.



B.- Obtención de la muestra

- Enjuagar la boca con agua destilada estéril o preferentemente con salina estéril.
- Obtener el esputo tras una expectoración profunda, preferentemente matinal.
- De no producirse expectoración espontánea, puede inducirse el esputo con nebulizaciones de suero fisiológico estéril (15 ml durante 10 minutos), siendo muy útil además realizar un drenaje postural o fisioterapia respiratoria.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Tres muestras obtenidas en días consecutivos.
- Volumen mínimo: 2-10ml.

D.- Transporte y conservación

- Envío al laboratorio en < 2 horas.
- Si envío en >2 horas, conservar en el frigorífico a 4°C.

E.- Observaciones

- Las muestras deben ser recogidas antes del inicio del tratamiento o en su caso es recomendable suspender cualquier tratamiento antimicrobiano de 3 a 5 días antes de tomar la muestra.
- Las muestras que sólo contengan saliva no serán aceptadas.
- Las muestras recogidas durante 24 horas no son aceptables.

17.2.2.2. JUGO GÁSTRICO

Esta muestra sólo es válida para un número muy reducido de microorganismos que son resistentes al pH gástrico, como es el caso de las micobacterias.

A.- Material necesario

- Sonda nasogástrica.
- Agua destilada estéril.
- Contenedor estéril de cierre hermético.



B.- Obtención de la muestra

- La muestra debería obtenerse a primer hora de la mañana tras un periodo de ayuno de 8 horas y antes de levantarse.
- Introducir oralmente o nasalmente la sonda en el estómago.
- Realizar un lavado con 25-50ml de agua destilada estéril.
- Aspirar la muestra e introducirla en un contenedor estéril de cierre hermético.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Tres muestras obtenidas en días consecutivos.
- Volumen mínimo: 5 – 10ml.

D.- Transporte y conservación

- **La muestra sin neutralizar debe ser enviada inmediatamente.**
- **Muestra neutralizada con bicarbonato: < 24 horas, refrigerada a +4°C.**

E.-Observaciones

- Esta muestra está indicada en niños pequeños o en pacientes que no expectoran y tragan sus esputos.
- Los lavados gástricos en general, no son recomendables, por ser con frecuencia negativos o contaminados con micobacterias sin interés clínico, además de ser una técnica molesta o dolorosa para el enfermo.
- Debido a la acidez del jugo gástrico, las micobacterias no sobreviven en él durante mucho tiempo.

17.2.2.3. MUESTRAS RESPIRATORIAS OBTENIDAS POR FIBROBRONCOSCOPIO

A.- Material necesario y obtención de la muestra

Según técnica señalada en el apartado de la toma de muestras del tracto respiratorio inferior para muestras obtenidas por fibrobroncoscopio:

- Broncoaspirado.
- Cepillado bronquial por catéter telescopado.
- Lavado broncoalveolar.
- Biopsia bronquial.

B.- Número de muestras y/o volumen

- El volumen mínimo recomendado para BAS y BAL es de 5ml.

C.-Transporte y conservación

- **Envío al laboratorio en < 1 hora.**
- **Envío > 1 hora, conservar en el frigorífico a 4°C.**

D.- Observaciones

- Es aconsejable recoger tres esputos en días consecutivos tras la broncoscopia.

17.2.2.4. MUESTRAS OBTENIDAS POR ABORDAJE PERCUTANEO

- Obtención de parénquima pulmonar por métodos señalados en el apartado de la toma de muestras de aparato respiratorio inferior.
- Se recomienda no utilizar medios de transporte.
- Envío al laboratorio en < 1 hora.

17.2.2.5. BIOPSIA Y LIQUIDO PLEURAL

A.- Material necesario y obtención de la muestra

- Según técnica señalada en el apartado de la toma de muestras del tracto respiratorio inferior.

B.- Número de muestras y/o volumen

- Para estudio de micobacterias se recomienda un **volumen mínimo de 10 a 15ml.**

C.- Transporte y conservación

- Las biopsias pueden enviarse en un tubo que contenga 0.25 ml de agua destilada estéril.
- Se recomienda no utilizar medios de transporte.
- Envío al laboratorio en < 1 hora.

17.2.3. MUESTRAS EXTRAPULMONARES

17.2.3.1. ORINA



A.- Material necesario

- Envase estéril con al menos 20 ml de volumen de orina, aunque se recomienda mas de 50 ml. Contenedor de boca ancha y cierre hermético.

B.- Obtención de la muestra

- Recogida estéril de la primera orina de la mañana. Se recoge toda la orina desechando sólo los primeros mililitros.

C.- Número de muestras y/o volúmen

- Tres muestras en 3 días consecutivos.
- Volúmen > 20ml.

D.- Transporte y conservación

- Envío al laboratorio en < 1 hora.
- Envío > 1 hora, conservar en el frigorífico a 4°C.

E.- Observaciones

- Lavado minucioso de los genitales como se indica para urocultivo.
- Es recomendable suspender cualquier tratamiento antimicrobiano de 3 a 5 días antes de la toma.
- *Muestras inaceptables:*
 - Muestras emitidas durante 24 horas.
 - Orinas recogidas de la bolsa de catéter permanente.
 - Muestras no recogidas de la primera micción de la mañana.
 - Muestras con volumen inferior a 20ml.

17.2.3.2. LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

A.- Material necesario y obtención de la muestra

- Según técnica señalada en el apartado de la toma de muestras del LCR.

B.- Número de muestras y/o volumen

- Para estudio de micobacterias se recomienda un volumen mínimo de 2 a 10 ml.
- Tubos estériles con tapón de goma o rosca.

C.- Transporte y conservación

- Envío al laboratorio en < 1 hora.

17.2.3.3. OTROS LÍQUIDOS ORGÁNICOS

A.- Material necesario y obtención de la muestra

- Según técnica señalada en el apartado correspondiente.

B.- Número de muestras y/o volumen

- Para estudio de micobacterias se recomienda un volumen mínimo de 10 a 10-15ml.

C.- Transporte y conservación

- Envío al laboratorio en < 1 hora.

D.- Observaciones

- Las muestras hemorrágicas deben anticoagularse con heparina o SPS.

17.2.3.4. SANGRE

17.2.4.1. CULTIVO MICOBACTERIAS:

- Las muestras deben recogerse en tubo de vacío con heparina o SPS (la sangre sin anticoagulante o con EDTA es inaceptable).
- Volumen mínimo 5ml.
- Realizar de 3 a 5 extracciones en días consecutivos.



17.2.4.2. DETECCIÓN QUANTIFERÓN TB-GOLD:

- TÉCNICA DE RECOGIDA DE SANGRE Y MANIPULACIÓN DE LOS TUBOS (QFT-Plus)

El Kit Quantiferon –TB Gold Plus contiene 4 tubos para la recogida de la sangre:

Tubo tapón GRIS: control nulo.

Tubo tapón VERDE: antígenos TB1.

Tubo tapón AMARILLO: antígenos TB2.

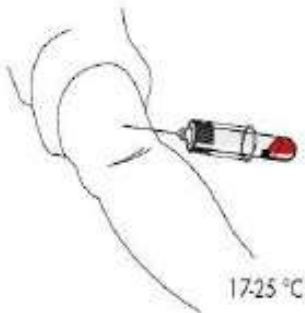
Tubo tapón PÚRPURA/MORADO: mitógeno.



(NOTA: no confundir el mitógeno con otros tubos de tapón morado)

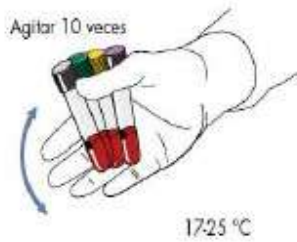
▪ Extracción:

Recoger, mediante venopunción, 1ml de sangre en cada tubo (en la línea negra gruesa de los tubos). Mantener el tubo en la aguja durante 3 segundos después del cese de flujo. Repetir la extracción si la sangre no llega a la marca negra.



Si se utiliza PALOMILLA para extraer la sangre, utilizar un tubo de purga para asegurarse de que el conducto está lleno de sangre antes de transferirla a los tubos de QFT-Plus.

▪ Agitación del tubo:



Inmediatamente después de llenar de los tubos, invertirlos suavemente 10 veces, asegurándose de que la sangre impregna las paredes del tubo y se solubilizan los antígenos liofilizados que se encuentran adheridos a ella. No agitar con fuerza porque puede romperse el gel y alterar los resultados.

- **Enviar los tubos inmediatamente** al laboratorio de Microbiología a T^a ambiente (No refrigerar).

EXCEPCIÓN: Laboratorios periféricos (H. Almansa – H. Villarrobledo):

Incubar los tubos en el hospital de origen, en posición vertical a 37°C durante 16-24 horas y después de la incubación centrifugar a 3500 rpm 7 minutos y enviar al laboratorio de microbiología del Hospital de Albacete, a T^a ambiente, en posición vertical, indicando **fecha de extracción** y rotulando que los tubos se encuentran “incubados”.

17.2.3.5. BIOPSIAS

A.- Material necesario y obtención de la muestra

- Según técnica señalada en el apartado correspondiente.

B.- Número de muestras y/o volumen

- Para estudio de micobacterias se recomienda recoger al menos 1gr de tejido.

C.- Transporte y conservación

- Envío al laboratorio en < 1 hora en contenedor estéril.

D.- Observaciones

- Las muestras hemorrágicas remitidas en formol son inaceptables.
- Para úlceras cutáneas tomar la muestra del borde de la lesión.

17.2.3.6. MÉDULA ÓSEA

- Las muestras deben recogerse con **tubo con heparina (tapón verde) o SPS (tapón amarillo)**.
- Se recogerá la máxima cantidad posible.



17.2.3.7. HECES

- **Se recogerá al menos 1gr en un contenedor estéril.**
- La utilidad de los cultivos y tinciones es controvertida, sólo se realizará visualización microscópica de la muestra.

17.2.3.8. ABSCESOS

- **Se recogerá por punción-aspiración tanta cantidad como sea posible.**
- Muestras obtenidas por hisopo sólo son aceptables de forma excepcional cuando no sea posible la obtención por punción-aspiración.

17.3. HONGOS

17.3.1. HONGOS DERMATOFITOS

A.- Material necesario

- Recipiente estéril de cierre hermético.
- Placas de Petri estériles.
- Lanceta, bisturí, espátulas, pinzas, tijeras, cortauñas, tijeras curvas y finas estériles.
- Portaobjetos limpios.
- Tubos estériles.
- Jeringas y agujas estériles.
- Solución salina estéril.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.

B.- Requisitos previos

- No haberse aplicado ningún producto antifúngico por vía local o general, al menos en los cuatro días precedentes a la toma para cultivo.
- Como medida general limpiar la piel, donde se vaya a realizar la toma, con alcohol etílico o isopropílico al 70%.

C.- Obtención de la muestra

17.3.1.1. ESCAMAS

- En el caso de lesiones cutáneas secas, se raspan las escamas con un bisturí estéril, sobre todo en las zonas de la periferia de la lesión. Si la lesión es pequeña se raspa en su totalidad. Las escamas se hacen caer dentro de una placa de Petri estéril.
- En el caso de la pitiriasis versicolor, en la que el hongo está localizado en las células epidérmicas superficiales, se aplica sobre la lesión un fragmento de cinta adhesiva transparente, se tira enérgicamente y se pega sobre un portaobjetos.

17.3.1.2. PELOS

- Se elegirán los cabellos o pelos parasitados, si es preciso con la luz de Wood, ya que ciertos cabellos afectados son fluorescentes.
- Los cabellos enfermos (rotos o contorneados) deben ser arrancados del folículo piloso.
- El material se recoge dentro de una placa de Petri estéril.



17.3.1.3. UÑAS Y TEJIDO PERIUNGUEAL

- La zona donde se debe hacer la toma por raspado es: la base de la uña, surco periungueal en caso de onixis por *Candida*, o la extremidad de la misma en el caso de onicomycosis por dermatofitos.
- Hay que coger también las escamas por debajo de las uñas introduciendo un bisturí estéril en el lecho subungueal anterior, que suele estar despegado, raspando pacientemente hasta llegar a la zona dolorosa, donde extraeremos el material de mejor calidad. Posteriormente se cortan con una tijera fina, curva y estéril fragmentos de la uña afectada. El material obtenido se recoge en una placa de Petri.

17.3.2. PNEUMOCYSTIS JIROVECI

- Son muestras adecuadas: Biopsias pulmonares, lavados broncoalveolares o lavados bronquiales. El esputo expectorado, excepto en pacientes con SIDA, no suele contener suficiente número de organismos para su detección, lo que le hace una muestra inadecuada.
- En niños muy pequeños pueden recogerse las secreciones respiratorias mediante aspiración laríngea por sonda nasal.
- Las muestras deben ser enviadas inmediatamente al laboratorio.

17.4. PARASITOS

17.4.1. Parásitos intestinales

17.4.2. Parásitos extraintestinales

17.4.2.1. Parásitos urogenitales

17.4.2.1.1. Trichomoniasis

17.4.2.1.2. Oxiuros vaginal

17.4.2.2. Parásitos vesicales

17.4.2.2.1. Esquistosomiasis

17.4.2.2.2. Filariasis (*Wuchereria bancrofti*)

17.4.2.3. Parásitos en sangre y tejido

17.4.2.3.1. Paludismo

17.4.2.3.2. Filariasis en sangre

17.4.2.3.3. Filarias en tejidos

17.4.2.3.4. Tripanosomiasis

17.4.2.3.5. Leishmaniasis

17.4.2.3.6. Toxoplasmosis

17.4.2.3.7. Triquinosis

17.4.2.4. Parásitos pulmonares

17.4.2.4.1. Quiste hidatídico

17.4.2.4.2. Duelas respiratorias y larvas de Nemátodos

17.4.1. PARASITOS INTESTINALES

A.- Material necesario

- Recipiente (orinal o similar) lo más amplio posible.
- **Contenedor especial con conservante para parásitos (incluye cucharilla e instrucciones para la toma de la muestra)**



B.- Obtención de la muestra

- **En los tres días previos a la recogida de muestras, el enfermo seguirá una dieta blanda en la que:**
 - se recomienda tomar: pan tostado (no integral), pastas, sémolas, arroz, huevos (tortilla), pescado, leche.
 - NO podrá tomar: medicamentos (especialmente antibióticos, antipalúdicos, laxantes oleosos), contrastes radiológicos (esperar 8-10 días para la recogida de muestras), patatas, verduras, legumbres, fruta, pastas, arroz, huevos, hígado y sesos.
- **En algunos casos es necesario administrar un purgante, con el fin de aumentar la posibilidad del hallazgo de parásitos.** Será un purgante salino, como sulfato de sodio o fosfato y carbonato de sodio; no deben usarse aceites minerales o compuestos de bismuto o magnesio.
- Con la cucharilla suministrada se recogerá una pequeña cantidad de heces recién emitidas y se introducirá en la parte que contiene la solución conservante.
- Cuando macroscópicamente se hayan visto formas compatibles con parásitos (nematodos adultos, porciones...) se recogerán en un recipiente estéril convencional y se añadirá una pequeña cantidad de suero fisiológico.

C.- Número de muestras y/o volumen

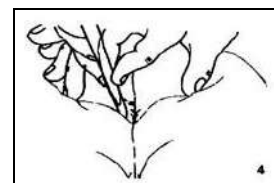
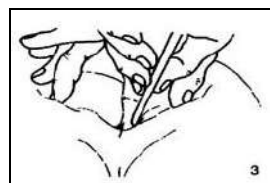
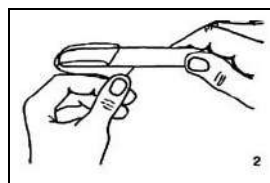
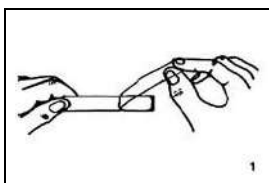
- Se deben remitir **TRES MUESTRAS** recogidas en días **NO CONSECUTIVOS** (por ejemplo días alternos o tres muestras en un periodo de 10 días) ya que la expulsión de parásitos puede ser intermitente.
- Es suficiente el volumen de heces contenido en la cucharilla suministrada con el recipiente especial.

D.- Transporte y conservación

- Las muestras de heces recogidas en los recipientes especiales se pueden remitir al laboratorio el día de su recogida o conservar a temperatura ambiente o refrigeradas hasta su envío.
- En el caso de parásitos adultos el envío debe hacerse previa separación de las heces en contenedor estéril convencional con solución fisiológica.

E.- Investigación de Oxiuros: TEST DE GRAHAM

- Si se sospecha de parasitación por *Enterobius vermicularis* se recomienda realizar este test tomando la muestra de la siguiente manera:
 - realizar la toma por la mañana, tras levantarse y antes del aseo personal
 - emplear un trozo de celofán transparente (22 x 22mm), montado en la extremidad de un depresor de lengua con la cara que pega hacia fuera y mantenido en posición por los dedos
 - separar las nalgas y presionar en ambos márgenes del ano con el celofán, para que en la cara engomada queden adheridos los huevos
 - adherir el celofán obtenido a la superficie de un portaobjetos longitudinalmente.
 - el portaobjetos se debe remitir al laboratorio en un **contenedor con tapón de rosca u otro recipiente correctamente cerrado** (los huevos son altamente infectivos y se debe minimizar el riesgo de transmisión)



NO SERÁN APTAS las muestras tomadas con celofán opaco ni aquellas en las que se adhieran códigos de barras o etiquetas sobre el mismo, lo que impide una correcta visualización al microscopio. Tampoco aquellas remitidas sin contenedor adecuado cerrado.

17.4.2. PARASITOS EXTRAINTESTINALES

17.4.2.1. PARASITOS UROGENITALES

17.4.2.1.1. TRICHOMONIASIS

- **Son muestras adecuadas para su estudio: orina, exudado uretral y exudado vaginal. Ver toma de muestras en apartados correspondientes.**

17.4.2.1.2. OXIUROSIS VAGINAL

- Suele ser una complicación de la parasitación intestinal, por lo que deben investigarse los huevos en vulva y ano conjuntamente.
- **Investigación de oxiuros en vulva:** con un papel de celofán montado en un depresor (**ver apartado Test de Graham**), se pegará varias veces sobre los labios menores y el itroíto vulvar. Montar sobre portaobjetos y enviar al laboratorio como se indica en dicho apartado.
- Investigación de oxiuros en ano: ver apartado Test de Graham.

17.4.2.2. PARASITOS VESICALES

17.4.2.2.1. ESQUISTOSOMIASIS

- **Son muestras adecuadas: orina y/o biopsia de la mucosa vesical.**
- **Orina:** recoger la muestra en contenedor SIN CONSERVANTES entre las 12 y las 15 horas tras realizar un esfuerzo moderado (subir escaleras, etc.) o tras masaje prostático.
- **Biopsia de la mucosa vesical:** la tomará un especialista por citoscopia. El material obtenido se enviará inmediatamente al laboratorio dentro de un recipiente estéril con una pequeña cantidad de suero salino.

17.4.2.2.2. FILARIASIS (*Wuchereria bancrofti*)

- Recoger 10-20ml de orina en un recipiente estéril sin conservantes y enviarlo inmediatamente al laboratorio. **No es la muestra adecuada para el diagnóstico habitual de filariasis.** Sólo se detectan microfilarias en orina en pacientes hiperinfectados, aquellos que presentan quiluria o los tratados con dietilcarbamazina

17.4.2.3. PARASITOS EN SANGRE Y TEJIDO

17.4.2.3.1. PALUDISMO

A.- Material necesario

- Alcohol de 70%
- Tubo de 5ml con anticoagulante EDTA (tapón malva).
- Aguja y jeringas.




B.- Obtención de la muestra

- **Punción venosa:** recoger 5ml de sangre en un **tubo estéril con EDTA** (se puede recoger en tubo estéril sin aditivos cuando la muestra se vaya a procesar inmediatamente). La muestra debe enviarse de inmediato al laboratorio. En caso de demora en el envío se debe conservar refrigerada.

C.- Número de muestras y/o volumen

- **Momento de la extracción:** en el período febril cualquier momento es bueno.

17.4.2.3.2. FILARIASIS EN SANGRE



Para la investigación de microfilarias de *Wuchereria bancrofti*, *Brugia spp*, *Mansonella spp*, *Loa loa*. Algunas microfilarias presentan periodicidad nocturna/diurna, por lo que se recomienda realizar la extracción en función de la zona geográfica de procedencia del paciente (consultar previamente con el laboratorio) y en caso de duda realizar dos extracciones, una sobre las 13:00 y otra sobre las 24:00 horas.

- **Punción venosa:** recoger 5ml de sangre en un tubo con anticoagulante (EDTA, Citrato sódico o Heparina) o en un tubo estéril sólo si se va a procesar inmediatamente tras la toma. La muestra debe enviarse de inmediato al laboratorio. En caso de demora en el envío se debe conservar refrigerada.

17.4.2.3.3. FILARIAS EN TEJIDOS

Para la detección de *Onchocerca volvulus*. Son muestras adecuadas para su investigación **pellizcos cutáneos** de nódulos o en su ausencia de la región glútea, escápula y pantorrilla de ambos lados.

- **Obtención:** con una aguja fina que se introducirá muy superficialmente se levanta un poco la piel, con ayuda de una hoja de afeitar o de un bisturí se cortará justo por debajo de la aguja, obteniéndose pequeños fragmentos de piel, que deben enviarse inmediatamente al laboratorio con 0.2ml de suero fisiológico.

17.4.2.3.4. TRIPANOSOMIASIS

El diagnóstico se basa en la demostración de los parásitos en muestras de sangre, médula ósea, LCR, ganglio, miocardio y otros tejidos afectados.

- **Punción venosa:** recoger 5ml de sangre en un **tubo estéril con EDTA** (se puede recoger en tubo estéril sin aditivos cuando la muestra se vaya a procesar inmediatamente). La muestra debe enviarse de inmediato al laboratorio. En caso de demora en el envío se debe conservar refrigerada. Las muestras de sangre son útiles en la **fase aguda** tanto en las tripanosomiasis americana como africana.
- **Biopsia o aspirado ganglionar:** obtención de la muestra por punción aspiración de la piel previamente desinfectada, o por biopsia ganglionar. La muestra debe enviarse inmediatamente al laboratorio en un recipiente estéril. Las muestras más adecuadas son los ganglios cervicales que se encuentran hipertrofiados o excesivamente reducidos.
- **Médula ósea:** obtener un aspirado y enviarlo inmediatamente al laboratorio en la misma jeringa o en un tubo estéril. Esta muestra es útil en la fase aguda.
- **LCR:** recoger asépticamente la máxima cantidad posible de LCR y enviarlo inmediatamente al laboratorio en un tubo estéril. Esta muestra es útil en fases tardías de la tripanosomiasis africana (*T. gambiense* y *T. rhodesiense*).

- **Chancro de inoculación:** la muestra se obtendrá por escarificación del chancro, muestra subepidérmica (igual que para microfilarias). Envío inmediato al laboratorio en un tubo con 0.2ml de suero fisiológico estéril. Esta muestra es útil en fases tempranas de *T. cruzi*.
- **Diagnóstico serológico de la tripanosomiasis americana:** enviar de 5-10ml de sangre en un tubo estéril sin anticoagulantes.

17.4.2.3.5. LEISHMASIASIS

- **Leishmaniasis cutánea:** introducir suero fisiológico estéril con jeringa y aguja por debajo del lecho de la úlcera inyectando y absorbiendo varias veces para desbridar el tejido. Recoger el material obtenido en la jeringa y enviarlo inmediatamente al laboratorio. Cuando se dispone de brocas dentales estériles es preferible utilizar la técnica de Griffitt y Dutz, introduciendo la broca por debajo de la lesión. Envío inmediato al laboratorio en un tubo con 0.2ml de suero fisiológico estéril.
- **Leishmaniasis mucocutánea:** realizar biopsia de la piel asépticamente y enviarla inmediatamente al laboratorio.
- **Leishmaniasis visceral (Kala-azar):** son muestras adecuadas los aspirados hepáticos, esplénicos, de médula ósea (remitir en tubo con heparina o sin aditivos si se va a procesar inmediatamente), biopsia ganglionar o sangre periférica (es una muestra poco rentable aunque puede ser útil en determinados pacientes) se debe remitir en tubo con Citrato sódico (tapón celeste), EDTA (tapón violeta) o heparina (tapón verde).

Envío inmediato al laboratorio.

- **Diagnóstico serológico:** enviar de 5-10 ml de sangre en un tubo estéril sin anticoagulantes. La serología es útil es la leishmaniasis mucocutánea y visceral.

17.4.2.3.6. TOXOPLASMOSIS

- **Diagnóstico serológico:** enviar de 5-10 ml de sangre en un tubo estéril sin anticoagulantes.

17.4.2.3.7. TRIQUINOSIS

- **Biopsia muscular:** preferentemente de músculo deltoides. Envío inmediato al laboratorio.

17.4.2.4. PARASITOS PULMONARES

17.4.2.4.1. QUISTE HIDATIDICO

- **Diagnóstico serológico:** enviar de 5-10ml de sangre en un tubo estéril sin anticoagulantes.

- **Aspiración del quiste:** aspirar el contenido del quiste (arenilla hidatídica) y enviarlo de inmediato al laboratorio.

17.4.2.4.2. DUELAS RESPIRATORIAS Y LARVAS DE NEMATODOS

Paragonimus westermani, larvas de *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis*, uncinarias y ocasionalmente *Cryptosporidium spp* y *Entamoeba histolytica*.

- **Espuito:** se recomienda remitir el primer esputo de la mañana obtenido por expectoración. Se valorará la calidad del mismo y serán rechazados aquellos de baja calidad.
- **BAS, BAL y aspirados bronquiales:** ver obtención de la muestra en el apartado correspondiente. Remitir en contenedor estéril al laboratorio.

18. SEROLOGÍA MICROBIANA

A.- Indicaciones

- Serología microbiana y determinaciones en LCR

B.- Material necesario

- Tubos de presión negativa estériles sin conservantes ni anticoagulantes para separación de suero o LCR.
- Sistema de toma de sangre para tubos de presión negativa.

C.- Número de muestras y/o volumen

- Recoger entre 8 – 10ml de sangre.
- En niños recoger entre 3 – 5ml de sangre.
- En la mayoría de los casos para diagnóstico serológico se precisan dos muestras tomadas la primera al inicio del cuadro infeccioso y la segunda a los 20 días del comienzo del mismo.

D.- Transporte y conservación

- Suero: mantener a temperatura ambiente para favorecer la coagulación hasta su envío al laboratorio.
- LCR: temperatura ambiente.

19. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE BACTERIAS MULTIRRESISTENTES

A. Indicaciones

1. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) : Frotis nasal, axilar e inguinal
2. Enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE): Frotis rectal
3. *Acinetobacter baumannii* multirresistente: Frotis rectal
4. *Enterococcus* spp. resistente a los glucopéptidos: Frotis rectal
5. Enterobacterias resistentes a cefalosporinas de 3^a generación: Frotis rectal
6. Pseudomonas multirresistente: aspirado traqueal

B.- Material necesario

- Torundas con medio de transporte.
- Guantes.



C.- Obtención de la muestra

- Frotis rectal: Introducir el hisopo sobrepasando un poco el esfínter anal y se rota para hacer la toma de las criptas anales, dejar 10 a 30 segundos para que se absorban los microorganismos y retirar.
- Frotis nasal: Introducir el hisopo en cada una de las fosas nasales y dejar unos segundos para que se absorban los microorganismos y retirar. Para estudio mediante PCR, se recomienda enviar torundas secas o medio líquido de transporte Stuart.
- Frotis axilar: Frotar el hisopo por la axila. Para estudio mediante PCR, se recomienda enviar torundas secas o medio líquido de transporte Stuart.
- Frotis inguinal: Frotar el hisopo por la ingle. Para estudio mediante PCR, se recomienda enviar torundas secas o medio líquido de transporte Stuart.

D.- Transporte y conservación

- Muestras con medio de transporte (Stuart- Amies)
- < 24 horas conservadas a temperatura ambiente o en nevera 2 a 8°C.

20. MUESTRAS PARA CONTROL MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL, DE PRODUCTOS HEMATOLÓGICOS Y DE NUTRICIÓN PARENTERAL

A.-Indicaciones

- Control microbiológico del aire: quirófanos y unidades de inmunodeprimidos
- Control microbiológico de procesos de desinfección y esterilización de endoscopios
- Muestras de control microbiológico de productos hematológicos

- Control microbiológico de la elaboración de nutriciones parenterales y colirio de suero autólogo.

B.- Obtención de la muestra

1. Control microbiológico del aire:

Para la toma de muestras se recomienda el método volumétrico por impacto y aspiración con un volumen de 1000 litros de aire en cada toma durante 10 minutos. Los aparatos que se utilizan en el muestreo se basan en el muestrador de Andersen. Se remite una placa de Sabouraud cloranfenicol (la toma la realiza el Servicio de Medicina Preventiva).

2. Control microbiológico de procesos de desinfección y esterilización de endoscopios

Aguas de fibroscopios y duodenoscopios: Canal de biopsia y canal de aspiración

Con el último aclarado y antes de secarlo se debe colocar el endoscopio en un campo estéril. Se introducen 20 ml de agua destilada por cada canal, biopsia y aspiración, recogiendo en un contenedor estéril (contenedor de boca ancha).

3. Muestras de control microbiológico de productos hematológicos:

En el caso de los hemoderivados del banco de sangre se recogerán asepticamente 20 ml de sangre de las bolsas sospechosas con una jeringa, se desinfectará con alcohol la superficie circular de goma de dos botellas de hemocultivo y se inocularán aproximadamente 10 ml de sangre en cada botella. Introducir la sangre en los frascos, primero en el frasco de anaerobios evitando que entre aire en dicho frasco. Mover los frascos para que la sangre y el medio de cultivo se mezclen.

Para aféresis de leucocitos se introducirá 1 ml en el frasco aerobio pediátrico.

4. Control microbiológico de la elaboración de nutrición parenteral y colirio de suero autólogo.

Recoger 2 ml de muestra e introducirla en un medio líquido como el thioglicolato o bien recoger 2-5 ml de muestra e introducirla en un tubo estéril.

C.- Transporte y conservación

1. Control microbiológico del aire:

La placa con medio de cultivo que está colocada en el aparato muestrador, debe retirarse del mismo, teniendo cuidado de no contaminarla. Se le colocará la tapa y se sellará con papel film (Parafilm®) para evitar contaminaciones en su traslado. Las muestras se enviarán al Servicio de Microbiología bien identificadas indicando el quirófano donde se ha realizado la toma de muestras y si es con quirófano vacío o durante la actividad quirúrgica.

2. Control microbiológico de procesos de desinfección y esterilización de endoscopios

Las muestras se enviarán en recipientes estériles cerrados y etiquetados indicando claramente el punto de toma de muestra y el número de serie del endoscopio. El procesamiento debe ser rápido

para evitar que se altere el recuento en el cultivo cuantitativo. Si se va a retrasar el procesamiento hay que conservar las muestras a 4°C.

3. Muestras de control microbiológico de productos hematológicos:

Deben enviarse al laboratorio lo más rápidamente posible. Hasta su envío mantener a 35-37°C; cuando esto no sea posible, mantener a temperatura ambiente. Nunca refrigerarse ni congelar.

4. Control microbiológico de la elaboración de nutrición parenteral y colirio de suero autólogo.

Remitir inmediatamente y si no es posible conservar a temperatura ambiente.

21. MUESTRAS PARA DETECCIÓN DE LA CARGA VIRAL DE CITOMEGALOVIRUS (CMV) Y VIRUS BK.

A.-Indicaciones

- Diagnóstico de la infección/enfermedad por CMV en pacientes transplantados, hematológicos y con VIH. Muestra requerida: **PLASMA**
- Diagnóstico de la infección congénita por CMV en neonatos. Muestra requerida: **ORINA**
- Diagnóstico de la infección por Virus BK en el trasplante renal. Muestras requeridas: **PLASMA y ORINA**

B.- Obtención de las muestras

1. PLASMA

La sangre debe obtenerse en un **tubo con EDTA** (malva). La heparina es incompatible con un análisis por amplificación génica ya que puede inhibirse. El citrato puede provocar problemas de pérdida de señal en la detección de los productos amplificados.

Material necesario

- Guantes estériles.
- Gasas estériles
- Tubos de presión negativa estériles para separación de plasma.
- Alcohol etílico al 70%
- Sistema de toma de sangre para tubos de presión negativa.

Procedimiento de obtención

- Localizar por palpación la vena que se va a puncionar. Cuando no haya venas accesibles puede realizarse la extracción de sangre arterial.
- Desinfectar con alcohol etílico al 70% una zona de piel de unos 10 cm de diámetro. Se comenzará por el centro y se irán haciendo círculos concéntricos hacia el exterior. Dejar que se seque durante un mínimo de 30 segundos.
- Extraer la sangre sin tocar en ningún momento el campo desinfectado. Si fuera necesario palpar nuevamente la vena, se utilizarán guantes de goma estériles o se desinfectarán los dedos de la misma manera que la piel del paciente. Si se requiere una segunda venopunción deberá cambiarse la aguja.

Volumen de muestra

- En adultos recoger un tubo malva (EDTA) de 5 ml de sangre.
- En niños recoger tubo pediátrico malva (EDTA) de 2ml de sangre.
- En Recién Nacidos y lactantes, si no es posible la venopunción, hacer extracción capilar, en este caso el volumen mínimo será de 0.5ml.

2. ORINA.

- **Se requiere contenedor sin aditivos**
- **Volumen mínimo de muestra: 0,5 ml**

Ver procedimiento para obtención de la muestra en apartado 4.1.

C.- Transporte y conservación

- **Las muestras de sangre deben enviarse al laboratorio inmediatamente a T^a ambiente. Una vez aquí serán centrifugadas para la obtención del plasma y conservadas a 4°C.**
- **Las muestras de orina se enviarán al laboratorio inmediatamente. En caso de que el envío se retrase conservarlas refrigeradas a 4°C.**