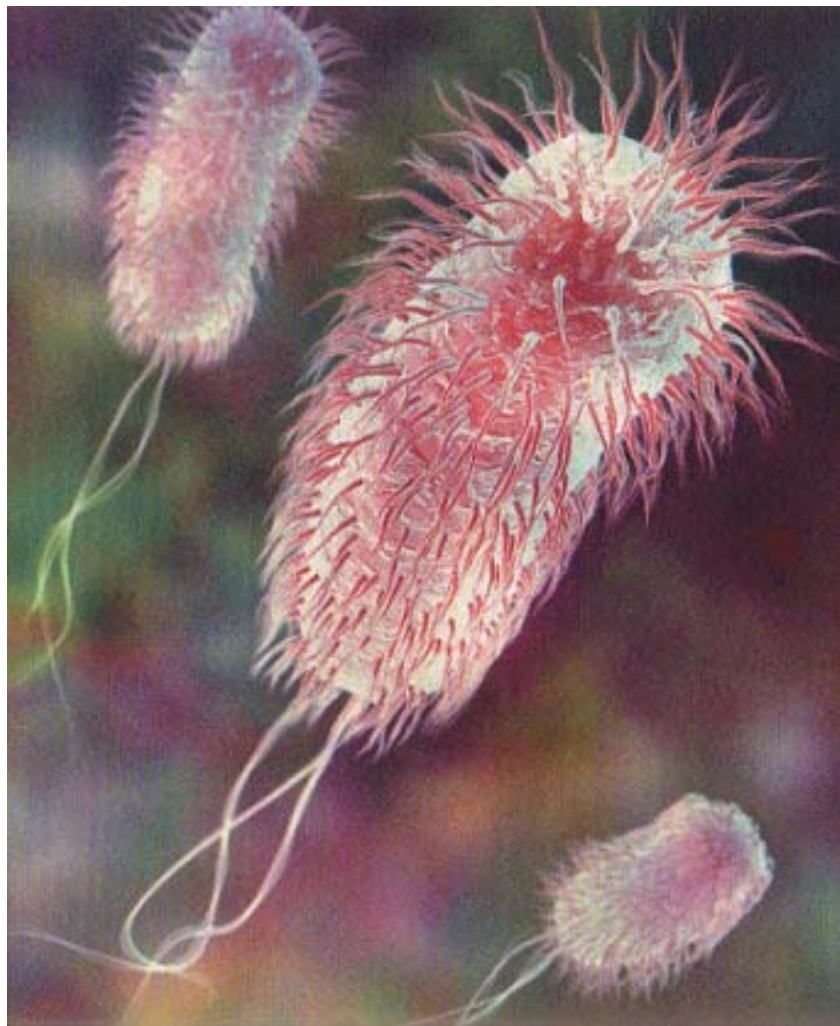


2011

SERVICIO DE
MICROBIOLOGÍA
Y
PARASITOLOGÍA.

MANUAL DE TOMA DE
MUESTRAS PARA
PROFESIONALES DE ATENCIÓN
ESPECIALIZADA



Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz.
Versión 2.0 – Marzo 2011

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	5
CONCEPTOS GENERALES	6
NORMAS BÁSICAS GENERALES	6
Volante de petición.....	6
Obtención de la muestra.....	7
Recogida de la muestra.....	8
Transporte.....	8
Horario de recepción de muestras en el laboratorio y teléfonos de contacto.....	9
Establecimiento de prioridades	9
Criterios de rechazo de muestras.....	10
UROCULTIVOS.....	11
CULTIVO DE BACTERIAS: ORINA OBTENIDA POR MICCIÓN MEDIA.....	12
CULTIVO DE BACTERIAS: ORINA DE PACIENTES CON CATÉTER PERMANENTE.....	15
CULTIVO DE BACTERIAS: ORINA VESICAL.....	15
CULTIVO DE MICOBACTERIAS: ORINA.....	16
COPROCULTIVOS	18
CULTIVO DE BACTERIAS: HECES.....	19
CULTIVO DE BACTERIAS: HISOPOS RECTALES.....	20
CULTIVO DE MICOBACTERIAS: HECES.....	21
ESTUDIO VIROLÓGICO: HECES	22
PARÁSITOS INTESTINALES.....	23
ESTUDIO PARASITOLÓGICO: HECES.....	23
ESTUDIO PARASITOLÓGICO: ASPIRADO DUODENAL.....	24
ESTUDIO PARASITOLÓGICO: INVESTIGACIÓN DE OXIUROS	25
MUESTRAS GENITALES.....	27
TRACTO GENITAL FEMENINO: EXUDADOS VAGINALES.....	27
TRACTO GENITAL FEMENINO: EXUDADOS CERVICALES.....	29
TRACTO GENITAL MASCULINO: EXUDADOS URETRALES.....	31



TRACTO GENITAL MASCULINO: MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE PROSTATITIS CRONICA.....	33
HEMOCULTIVOS.....	36
CATÉTERES	40
CATÉTERES INTRAVASCULARES	40
OTROS CATÉTERES Y DRENAJES.....	42
SISTEMA OCULAR	42
EXUDADOS CONJUNTIVALES.....	42
RASPADOS CORNEALES.....	43
LENTES DE CONTACTO - LENTE INTRAOCULAR	44
TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR	46
OÍDO EXTERNO: EXUDADO ÓTICO	46
OÍDO MEDIO: EXUDADO ÓTICO	47
EXUDADO FARINGO-AMIGDALINO.....	48
EXUDADOS NASOFARINGEOS.....	49
EXUDADOS DE SENOS PARANASALES	50
EXUDADOS DE CAVIDAD ORAL.....	51
EXUDADOS NASOFARINGEOS: Estudio de virus de la gripe.....	52
TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR.....	56
ESPUTO.....	57
JUGO GÁSTRICO.....	58
BRONCOASPIRADO	59
LAVADO BRONCOALVEOLAR	60
CEPILLADO BRONQUIAL MEDIANTE CATÉTER TELESCOPADO.....	62
LÍQUIDOS ORGÁNICOS	64
LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO.....	64
OTROS LIQUIDOS ORGÁNICOS ESTÉRILES.....	66
PIEL Y TEJIDOS BLANDOS	70
ULCERAS Y HERIDAS SUPERFICIALES.....	70
ÚLCERAS CRÓNICAS.....	71



EXANTEMAS.....	73
ABSCESOS CERRADOS.....	74
FÍSTULAS Y TRACTOS SINUSALES.....	76
MICOSIS CUTÁNEAS	77
SEROLOGÍA INFECCIOSA.....	80
MICROBIOLOGÍA MOLECULAR INFECCIOSA	82
BIBLIOGRAFÍA.....	84
ANEXO	87
CATÁLOGO DE MATERIAL DE TOMA DE MUESTRAS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	87

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas se basa en el estudio de los síntomas y signos clínicos, así como en la demostración de la presencia de su agente productor, de sus productos o de la respuesta del sistema inmune frente a dicho agente. El diagnóstico clínico es en algunos casos bastante demostrativo, pero en la gran mayoría de los casos el diagnóstico es difícil y necesita el apoyo del laboratorio. Es bien conocido que un mismo microorganismo puede dar una gran variedad de cuadros clínicos, en una o varias localizaciones, y que la sensibilidad a los antimicrobianos de un microorganismo es variada, dependiendo de los mecanismos de resistencia que haya desarrollado cada aislamiento. Por todo ello, la confirmación de la etiología de un proceso infeccioso, así como la ayuda para su tratamiento es una información necesaria aportada por el laboratorio de Microbiología.

Toda la información diagnóstica que el laboratorio de Microbiología puede proporcionar depende de la calidad de la muestra recibida. El término calidad incluye la selección apropiada de la muestra, la recogida y su transporte al laboratorio. Por ello, una muestra mal tomada, escasa o mal transportada, determinará un posible fallo en la recuperación de los agentes patógenos, que puede inducir a errores diagnósticos, e incluso a un tratamiento inadecuado del enfermo. Este hecho debe ser bien conocido por las personas que realizan las tomas en clínicas, centros de salud, salas y consultas hospitalarias, lo que hace necesaria la preparación continuada de dicho personal sanitario, al que hay que concienciar del coste económico inútil, así como de los errores en los resultados obtenidos de una determinación microbiológica realizada a partir de una muestra inadecuada.

La calidad de un laboratorio depende, en gran medida, de factores relativos a la recogida de muestras, y a su procesamiento inicial. Así pues, se consideran indicadores del nivel de calidad en cuanto a la fase preanalítica: el número de muestras rechazadas, las muestras aceptadas contaminadas, la solicitud de determinaciones repetida en un período corto de tiempo, la adecuación de las peticiones a las muestras enviadas, etc.

Es imprescindible que la comunicación entre los microbiólogos y los clínicos sea muy fluida y que esté claramente definido y asumido por todos,



que el clínico DEBE preguntar al microbiólogo para asesorarse sobre las muestras y técnicas más útiles para el diagnóstico de la enfermedad que padece el paciente y que el microbiólogo DEBE comunicarse con los clínicos, no sólo como asesor, sino preguntando sobre aquéllas cuestiones que le van a permitir realizar un diagnóstico más adecuado y rechazando las peticiones que no son rentables desde el punto de vista del diagnóstico microbiológico.

CONCEPTOS GENERALES

NORMAS BÁSICAS GENERALES

Son muchas las consideraciones generales que deben guiar la recogida y envío de muestras microbiológicas; con criterio didáctico, ya que muchas de ellas son simultáneas, podemos dividir las en los siguientes apartados: volante de petición, obtención de la muestra, recogida de la misma y transporte.

Volante de petición.

Cada muestra deberá ir acompañada de un volante de petición, que deberá ser legible y estar correcta y completamente cumplimentado.

El volante de petición para las determinaciones bacteriológicas, micológicas y virológicas debe ser exclusivo para el laboratorio de Microbiología, no siendo apropiado el uso de volantes comunes con otras especialidades, ya que esto conlleva errores y retrasos en el procesamiento de las muestras, la imposibilidad de realizar comprobaciones a partir del original y deficiencias en su archivo.

Por el contrario, cuando se soliciten determinaciones serológicas, se empleará el volante general del Laboratorio.

Todo volante o vale de petición deberá poseer las cinco áreas siguientes:

1. Filiación y datos administrativos, donde se debe especificar el nombre y apellidos, sexo y edad del paciente, el médico solicitante (incluyendo número de identificación) y el centro, servicio, o consulta al que



- pertenezca, así como cualquier otro dato de identificación, como el número de cama, el CIP y/o el número de historia clínica. Debe constar el servicio de destino cuando sea distinto del de origen.
2. Datos clínicos, como fecha del comienzo de la enfermedad, diagnóstico clínico de presunción, estado inmunitario del paciente, etc. Todos estos datos son de gran interés para orientar las técnicas que hay que realizar.
 3. Datos de la muestra, como fecha de obtención, naturaleza del producto y exacta localización de la toma, así como el procedimiento de extracción, o si se ha realizado alguna técnica especial (punción transtraqueal, vesical, etc.).
 4. Terapéutica seguida, antimicrobianos, que se han administrado y tiempo desde la última toma o inyección. Lo ideal es que todas las muestras se tomen antes de empezar un tratamiento antibiótico.
 5. Área para la solicitud, indicando claramente el tipo o tipos de determinaciones requeridas, y en caso de que se desee la búsqueda de un microorganismo determinado, éste se reseñará (M. tuberculosis, Mycoplasma, etc.).
 6. Etiquetado: es imprescindible pegar en cada volante una etiqueta identificativa generada por ordenador.

Es recomendable que las muestras estén en el laboratorio de Microbiología lo antes posible para iniciar su procesamiento.

Obtención de la muestra.

En líneas generales, es necesario que la muestra:

- Se obtenga del sitio exacto de la lesión y siguiendo las precauciones universales
- Se recoja con las máximas condiciones de asepsia, para evitar la contaminación
- Nunca se ponga en contacto con antisépticos o desinfectante
- Sea recogida preferentemente por aspiración, en lugar de tomada con hisopos
- Se tome en cantidad adecuada, para facilitar el estudio detallado
- Se recoja antes de la instauración del tratamiento antibiótico. Cuando no sea posible, se obtendrá justo antes de la administración del antimicrobiano, o tras 48 horas de su retirada, indicándolo en el volante de petición.



- Sea identificada con las etiquetas correspondientes, o en su defecto, debe ser correctamente rotulada, con los datos del paciente, el lugar anatómico de procedencia de la muestra, la fecha y el servicio solicitante. La identificación debe ser adherida al frasco y no a los tapones.

Recogida de la muestra.

Cada tipo de muestra requiere un material estéril para su recogida y transporte. Aunque éste se estudia con detenimiento en cada uno de los apartados correspondientes, en el anexo I se recogen los principales envases, contenedores, hisopos, tubos, etc., de uso en el laboratorio de Microbiología.

Transporte.

Todas las muestras deberán ser enviadas lo más rápidamente posible al laboratorio, preferentemente antes de dos horas. La mayoría de los microorganismos, salvo excepciones, resisten bien las temperaturas bajas, por lo que los productos pueden mantenerse en la nevera hasta su envío al laboratorio.

En todos los casos, la forma de envío de la muestra debe evitar el vertido (y posible contaminación) del contenido, por lo que el recipiente debe cerrarse con seguridad.

Es obligatorio que las muestras sean transportadas en nevera y en recipientes homologados de contención biológica. En caso de envíos múltiples, el vertido de una de las muestras implicará el rechazo de todas ellas. Siempre quedará clara la identidad de la muestra, de la persona a quien pertenece, y los servicios solicitante y receptor

Cuando la viabilidad de los microorganismos es muy escasa o la posibilidad de desecación de la muestra es grande (favoreciéndose la destrucción bacteriana), se usarán medios de transporte específicos. Se trata de medios, tales como los de Stuart o Amies, que no son nutritivos, sino que preservan las bacterias existentes, sobre todo si son escasas, a la vez que impiden el crecimiento exagerado de otra flora bacteriana no deseada. Estos medios existentes en el comercio pueden ser para bacterias aerobias o



anaerobias, y aunque pueden conseguir supervivencias de hasta 24 horas a temperatura ambiente, deberán enviarse también lo más rápidamente posible al laboratorio.

Horario de recepción de muestras en el laboratorio y teléfonos de contacto.

El horario del laboratorio de Microbiología es:

Lunes a viernes: 8-15 h

Teléfonos de contacto: 924218025

Establecimiento de prioridades

Debe quedar claramente establecido qué muestras se consideran “urgentes”, cuáles son de procesamiento “rutinario” y cuáles “electivas”.

- Las muestras urgentes son aquellas que necesitan un procesamiento urgente o una pronta respuesta (en la mayoría de los casos con informes preliminares vía telefónica) y procedan en su mayoría del servicio de Urgencias o Unidades Críticas.
- Las muestras rutinarias son aquéllas que tienen un procesamiento específico bien protocolizado y que corresponden a la mayoría de muestras que se envían desde los centros de salud y desde las consultas externas (ejemplo: orina para cultivo, heces para cultivo...), en las que la petición corresponde con un tipo de determinación microbiológica muy clara.
- Las muestras “electivas” son aquéllas que se envían al laboratorio y que necesitan de la interpretación del microbiólogo para orientar su procesamiento.

Todas las llamadas telefónicas sobre información de resultados microbiológicos deben quedar reflejadas en el Libro de llamadas externas, donde deberá anotarse la fecha, la persona que la realiza, el motivo de la llamada y el servicio y la persona que atiende y que por tanto se responsabiliza de su actuación posterior.

Criterios de rechazo de muestras

Los criterios de rechazo de muestras para estudio microbiológico son fundamentales para prevenir el informe de datos con escaso o nulo valor (o incluso motivo de confusión) para el diagnóstico y el tratamiento del paciente, así como aquéllas que por sus condiciones (derramamiento...) puedan atentar contra la seguridad biológica del personal del laboratorio.

El rechazo de una muestra por parte del laboratorio no debe ser interpretado como una negativa a establecer un diagnóstico, ni como una dejación de funciones por parte del laboratorio, ni tiene finalidad recriminatoria para el solicitante; generalmente se trata de una simple petición de una nueva muestra que aportará información de mayor relevancia clínica para el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes. De hecho, a no ser que el contenedor esté roto y/o la muestra se haya derramado, la muestra debe mantenerse en el laboratorio hasta que se haya notificado al médico peticionario la incidencia.

Los criterios de rechazo son:

- Muestra no etiquetada o etiquetada de forma que puede llevar a confusión
- Transporte inadecuado
- Tiempo excesivo desde la obtención de la muestra
- Contenedor inadecuado
- Contenedor no estéril
- Contenedor roto o muestra derramada
- Muestras con contaminación orofaríngea evidente
- Contaminación exógena obvia
- Muestras duplicadas tomadas a la vez
- Muestras recogidas en el mismo día con la misma petición (excepto sangre para cultivo)
- Muestras no adecuadas para la petición realizada
- Cantidad insuficiente para el estudio solicitado
- Toda muestra biológica previamente manipulada, o en caso de suero, cuando no sea tubo primario.

UROCULTIVOS

Introducción

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son una de las más frecuentes, solamente superadas por las del tracto respiratorio. Son más prevalentes y recurrentes en la mujer, y su incidencia aumenta con la edad.

El cultivo de orina establece el diagnóstico etiológico de certeza de una infección urinaria tanto sintomática como asintomática (bacteriuria asintomática) en pacientes con riesgo de infección. Permite a su vez la realización de estudios de sensibilidad.

La piuria, junto con la bacteriuria, es un dato muy importante para el diagnóstico de ITU, ya que está presente en la mayoría de los casos. Una excepción es la bacteriuria asintomática, en la que la piuria puede estar ausente.

Existen varios factores que determinan la epidemiología de la infección urinaria, entre ellos destacan la edad, determinadas enfermedades, cateterismos u otros tipos de instrumentación del tracto genitourinario. Estos han de tenerse siempre en cuenta a la hora de interpretar los urocultivos.

Los agentes etiológicos predominantes son las enterobacterias, siendo *E.coli* la causa más importante. Otros microorganismos que con frecuencia producen infección de orina son *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus*, etc.

Indicaciones del urocultivo:

No todas las ITU requieren la práctica sistemática del urocultivo. En el primer episodio de cistitis no complicada en mujeres jóvenes no se recomienda la práctica del urocultivo, aconsejándose tratamiento antibiótico empírico según epidemiología y resistencias en ese medio.



Se debe realizar urocultivo en los siguientes casos:

- Sospecha de pielonefritis
- Sospecha de ITU en neonatos, lactantes y niños
- Sospecha de ITU en varones
- ITU recurrente en mujeres
- Sospecha de ITU complicada en mujeres: anomalías estructurales y funcionales del tracto urinario, cuerpo extraño en el tracto urinario, manipulación urológica reciente, estados de inmunodepresión y tratamientos antibióticos prolongados
- Sospecha de ITU en portadores de sonda permanente
- Sospecha de sepsis de origen urinario
- Bacteriemia de origen desconocido
- Obstrucción del tracto urinario
- Después de retirar una cateterización
- Como control de tratamiento en todos los casos anteriores
- Como screening en 1^{er} trimestre del embarazo (16 semanas)
- Antes de instrumentalización o cirugía de vías urinarias

CULTIVO DE BACTERIAS: ORINA OBTENIDA POR MICCIÓN MEDIA.

Obtención de la muestra

La muestra idónea es la primera micción de la mañana en pacientes adultos y no sondados, ya que permite la multiplicación de bacterias durante la noche.

1. Material necesario.

- Gasas estériles.
- Jabón neutro.
- Recipiente de boca ancha con tapa de rosca, hermético y estéril.
- Bolsas de plástico o colectores estériles para niños.



2. Técnica	
2.1 Técnica para mujeres	<ul style="list-style-type: none">• La paciente debe quitarse la ropa interior.• Se lavará las manos cuidadosamente con agua y jabón, las enjuagará con agua y las secará con una toalla limpia.• Se separarán los labios mayores y menores, y los mantendrá separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.• Con una gasa enjabonada se lava bien la vulva pasándola de delante hacia atrás.• Enjuagar cuidadosamente con agua para eliminar los restos de jabón.• Se indicará a la paciente que orine desechando los 20-25 primeros mililitros, tras lo cual y sin interrumpir la micción, se recogerá la orina media en el recipiente, desechando la última parte.• El frasco debe sujetarse para que no tome contacto con pierna, vulva o ropa del paciente. Los dedos no deben tocar el borde del frasco o su superficie interior.
2.2. Técnica para hombres	<ul style="list-style-type: none">• Lavado de las manos con agua y jabón.• Retraer completamente el prepucio, que se mantendrá así en todo momento, hasta que se haya recogido la orina.• Limpiar el glande con jabón neutro.• Eliminar los restos de jabón enjuagándolo con agua.• Se pedirá al paciente que orine desechando los primeros 20-25 mililitros para, sin interrumpir la micción, recoger la orina media en el recipiente estéril, despreciando la última parte.
2.3. Técnica para niños	<ul style="list-style-type: none">• En niños y niñas mayores la orina se recoge de forma similar a los adultos.• En niños y niñas más pequeños, la orina se recogerá en colectores o bolsas estériles especialmente diseñadas para ellos• Debe realizarse un lavado cuidadoso de los genitales y del área donde colocará la bolsa de plástico o el colector.• Se debe vigilar la bolsa cada 30 minutos y tan pronto como el niño haya orinado, debe retirarse y enviarse al laboratorio para su procesamiento.• Si la micción no se ha realizado en una hora, se repite la operación colocando una nueva bolsa
3. Volumen mínimo	
	Es suficiente un volumen de orina de 1-10 ml (ver Tabla nº 1).

Conservación y transporte.

La orina debe llegar al laboratorio en el plazo de una hora. Si no es posible, mantener a 4° C durante un tiempo máximo de 24 horas o utilizar un medio de transporte.

Observaciones.

Para la investigación de anaerobios es necesario que la orina se obtenga por punción suprapúbica.

Cuando se sospecha la presencia de hongos, virus y parásitos, ver Tabla 1.

Tabla 1: Recomendaciones sobre el volumen de orina

Determinación	Volumen	Comentarios
Bacterias	1-10 ml	Primera orina de la mañana.
Hongos	>20 ml	Primera orina de la mañana.
Micobacterias	>20 ml	Primera orina de la mañana 3 días consecutivos.
Anaerobios	1 ml	Aspirado suprapúbico, enviar inmediatamente o usar sistema de transporte de anaerobios .
Virus	10-15 ml	Primera orina de la mañana, enviar con hielo y transportar al laboratorio inmediatamente.
Parásitos	>50 ml	En caso de sospecha de <i>Schistosoma</i> , debe recogerse después de hacer un ejercicio moderado, como subir y bajar escaleras durante 10 minutos



CULTIVO DE BACTERIAS: ORINA DE PACIENTES CON CATÉTER PERMANENTE.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Gasas.• Alcohol 70° C o solución yodada.• Jeringa o aguja estéril.• Recipiente estéril.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Se limpiará el catéter con una gasa humedecida en alcohol o solución yodada.• Dejamos secar unos minutos.• Pinchar directamente con aguja estéril el catéter por la zona desinfectada, aspirando entre 3-5 ml.

Conservación y transporte.

- Pasar la orina a un recipiente estéril.
- Si no puede llevarse al laboratorio, se debe refrigerar a 4°C.

Observaciones.

Como regla general se considera que la muestra de sonda vesical no es una muestra adecuada para estudio microbiológico y que está justificado rechazar su procesamiento.

CULTIVO DE BACTERIAS: ORINA VESICAL.

Indicaciones

- Evidencia clínica del cuadro urinario con recuentos bajos o nulos.
- Neonatos y lactantes.
- Cateterización contraindicada o difícil.
- Búsqueda de anaerobios.
- Urocultivos repetidos con dos o más bacterias.



Obtención de la muestra.

Es la orina obtenida por punción suprapúbica o por cistoscopia. Requiere un buen conocimiento de la técnica y de las precauciones que hay que adoptar, con rigurosa asepsia, descartando problemas de hemostasia y con la vejiga palpable y previa desinfección y anestesia local.

1. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Se punciona la vejiga a 1,5 cm de la sínfisis pubiana, en la línea media, estando el paciente en decúbito supino.• Se aspira el contenido vesical con una jeringa de 10 ml. con una aguja larga (calibre 19).• Enviar al laboratorio lo antes posible en la misma jeringa de la extracción, tras expulsar el aire de su interior y con la aguja pinchada en un tapón de goma estéril.• Indicar en el volante la procedencia de la muestra o técnica empleada para su recogida (dato importante a la hora de valorar el recuento de colonias).

CULTIVO DE MICOBACTERIAS: ORINA

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Envase estéril de al menos 20 ml de capacidad, de boca ancha y cierre hermético.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Deben mantenerse las normas generales correspondientes a la obtención de muestras para el cultivo• Recogida por micción estéril de la primera orina de la mañana.• En cada micción se recogen 50 ml de orina, desechando los primeros mililitros.
3. Número de muestra y volumen mínimo	
	<ul style="list-style-type: none">• 3 muestras obtenidas en días consecutivos.• >20 ml



Conservación y transporte.

- Envío inmediato al laboratorio.
- Si no es posible, conservar a 4°C.

Observaciones.

- Lavado minucioso de los genitales como se indica en el apartado de toma de muestras para cultivo de bacterias.
- Es recomendable suspender cualquier tratamiento antimicrobiano de 3 a 5 días antes de la toma.

Criterios de rechazo de muestras.

- Muestra no identificada correctamente: Las muestras de orina que no lleguen al laboratorio correctamente identificadas y sea imposible averiguar el paciente a que pertenecen serán excluidas. Se informará al servicio responsable de la petición y se desechará la muestra.
- Muestra en contenedor NO estéril.
- Muestra no adecuada: Catéteres de Foley (sonda vesical), orina obtenida por micción espontánea o de catéter para cultivo de anaerobios. Se informará igualmente al servicio responsable de la petición y se desechará la muestra.
- Muestras que no hayan llegado al laboratorio en 2 horas desde su recogida y no hayan sido correctamente conservadas en nevera a 4°C. Se informará igualmente al servicio responsable de la petición y se desechará la muestra.
- Sólo en el caso de que la muestra lleve conservante, el cultivo podrá retrasarse hasta 24 horas.



COPROCULTIVOS

Introducción.

La diarrea es el proceso que se acompaña de la eliminación frecuente de heces, disminución de su consistencia o ambas cosas. El número de microorganismos implicados en cuadros entéricos ha aumentado mucho en los últimos años.

Ante la sospecha de un cuadro de infección gastrointestinal debe hacerse una detallada historia clínica y un correcto estudio microbiológico.

Los antecedentes epidemiológicos (edad, historia reciente de viajes, aparición esporádica o como parte de un brote, tipo de alimento sospechoso, período de incubación), la existencia de factores predisponentes (SIDA, inmunosupresión), la presencia de signos y síntomas clínicos (fiebre, dolor abdominal, manifestación de náuseas y vómitos) y el tipo de diarrea (acuosa, mucosa o sanguinolenta) pueden orientar acerca del microorganismo implicado. No obstante, el diagnóstico etiológico definitivo se debe obtener mediante pruebas de laboratorio.

Los agentes etiológicos más frecuentes en nuestro medio son:

- *Salmonella* spp
- *Campylobacter* spp
- *Shigella* spp
- *Yersinia* spp.
- *Aeromonas* spp.
- Rotavirus y adenovirus

Otros agentes etiológicos que pueden identificarse asociados a determinadas situaciones clínicas y/o epidemiológicas son:

- *Clostridium difficile*
- *Vibrio* spp.
- *Escherichia coli* enterohemorrágico (O157: H7)



CULTIVO DE BACTERIAS: HECES.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Recipiente de boca ancha para recoger las heces (tipo orinal o similar). No es necesario que esté estéril, sólo es preciso que esté limpio.• Recipiente estéril de cierre hermético para enviar la muestra, si es posible con cucharilla.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Si son formadas o pastosas, se seleccionan zonas donde haya sangre, moco o pus.
3. Volumen mínimo	
	<ul style="list-style-type: none">• 1-2 g de heces formadas o pastosas y de 5-10 ml de heces líquidas.

Conservación y transporte.

- Si el procesamiento se retrasa más de dos horas, se debe mantener en refrigeración a 4°C para evitar el sobrecrecimiento de la flora normal que puede enmascarar o destruir a los enteropatógenos.

Observaciones.

- Las muestras para coprocultivo, deberán tomarse antes de la administración de antimicrobianos o agentes antidiarréicos.
- Indicar siempre el juicio diagnóstico de presunción y la edad del paciente.
- Solicitar las investigaciones especiales explícitamente (*C. difficile*, *Vibrio* spp., *E. coli* enterohemorrágico (O157: H7), etc.), acompañada de datos clínicos y epidemiológicos.
- Si con la primera muestra no se detecta la presencia de enteropatógenos, es necesario enviar en los días siguientes, dos muestras adicionales.

CULTIVO DE BACTERIAS: HISOPOS RECTALES

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Hisopos rectales con medio de transporte.• Guantes.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• En general debe desaconsejarse su uso, aunque hay que recurrir a él si no se puede disponer de heces, como en neonatos o adultos debilitados.• Se ha demostrado eficaz en el aislamiento de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Campylobacter</i> spp., <i>Shigella</i> spp. y en portadores anales de <i>Streptococcus agalactiae</i>.• No es válido para la búsqueda de antígenos.• 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.• Una vez realizado se introduce en un medio de transporte.

Conservación y transporte.

- Se introducen inmediatamente en medio de transporte adecuado, pues así se protege a las bacterias de la desecación.
- Se envía rápidamente al laboratorio.

Observaciones.

- Son válidas las referentes a las heces.
- Son muestras inadecuadas los hisopos rectales secos, sin medio de transporte



CULTIVO DE MICOBACTERIAS: HECES

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Recipiente de boca ancha para recoger las heces (tipo orinal o similar). No es necesario que esté estéril, sólo es preciso que esté limpio.• Recipiente estéril de cierre hermético para enviar la muestra, si es posible con cucharilla.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Si son formadas o pastosas, se seleccionan zonas donde haya sangre, moco o pus.• Se recomienda el estudio de 3 muestras de al menos 1g cada una.

Conservación y transporte.

- Si el procesamiento se retrasa más de dos horas, se debe mantener en refrigeración a 4º C para evitar el sobrecrecimiento de la flora normal.

Observaciones.

- Las muestras para coprocultivo, deberán tomarse antes de la administración de antimicrobianos o agentes antidiarréicos.
- Solicitar la investigación de micobacterias explícitamente, acompañada de datos clínicos y epidemiológicos.



ESTUDIO VIROLÓGICO: HECES

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Recipiente estéril de cierre hermético para enviar la muestra, si es posible con cucharilla
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Se seguirá el mismo procedimiento que para cultivo bacteriológico.
3. Volumen mínimo	
	<ul style="list-style-type: none">• Si las heces son formadas o pastosas, para cultivo de virus se aconseja un mínimo de 3 a 6 gr de heces.• Si las heces son líquidas: 5-10ml.

Conservación y transporte.

- Es preferible enviar las muestras para estudio virológico sin medio de cultivo, pues éste diluye las partículas virales disminuyendo la sensibilidad.
- Si el envío se retrasa mucho, es necesario utilizar un medio de transporte para virus. Se enviarán en recipientes colocados en hielo.

Criterios de rechazo de muestras.

- Muestras no identificadas correctamente.
- Heces transportadas inadecuadamente.
- Heces contaminadas con orina o agua.
- Heces recogidas con papel higiénico, ya que contiene sales de bario que inhiben el crecimiento de enteropatógenos.
- Heces que no han sido refrigeradas después de 2 horas post-emisión.
- Varios coprocultivos del mismo día.
- Torundas secas o sin medio de transporte.



PARÁSITOS INTESTINALES

ESTUDIO PARASITOLÓGICO: HECES

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Recipiente (orinal o similar) lo más amplio posible.• Recipiente estéril con conservante, específico para estudio de parásitos.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• En los tres días previos al estudio parasitológico, el enfermo seguirá una dieta en la que no podrá tomar: medicamentos, papilla de bario, patatas, verduras, legumbres y frutas, pan tostado, pastas, arroz, huevos, hígado y sesos.• En algunos casos es preferible y 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, ya que las gotas o cristales procedentes de ellos pueden enmascarar los parásitos o confundirse con trofozoítos.• Con una cucharilla se recogerá una pequeña cantidad de heces recién emitidas y se enviarán en un recipiente con el medio de transporte específico para ese fin.• Cuando macroscópicamente se hayan visto formas compatibles con parásitos en el ano o en las heces, se recogerán en el recipiente y se añadirá una pequeña cantidad de suero fisiológico.
3. Volumen mínimo	
	<ul style="list-style-type: none">• Es suficiente un volumen de 2-4 g. de heces.• Un estudio parasitológico completo debe constar de tres muestras recogidas en días sucesivos, ya que la eliminación de parásitos puede ser intermitente.



Conservación y transporte.

- Las muestras líquidas deben ser procesadas inmediatamente, puesto que los trofozoitos de algunos parásitos se deterioran rápidamente. Esto es fundamental en el diagnóstico de las diarreas por *Entamoeba histolytica*, ya que es imprescindible procesar las muestras en menos de 30 minutos.
- La muestra no líquida pueden mantenerse a temperatura ambiente-
- Si se observan parásitos de forma macroscópica (gusanos adultos o anillos de tenias), deben enviarse al laboratorio a temperatura ambiente en solución fisiológica.

ESTUDIO PARASITOLÓGICO: ASPIRADO DUODENAL

Será la muestra adecuada para la búsqueda de *Giardia intestinalis*, *Strongyloides stercoralis*, y *Ascaris lumbricoides* cuando los exámenes de heces hayan sido repetidamente negativos.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Recipientes estériles de boca ancha, tubo de tapón de rosca, tubo de vacío.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Medio de transporte para parásitos.• Solución salina.• Introducir el tubo a través de la boca hasta alcanzar el duodeno y aspirar.• Para la búsqueda de <i>G. intestinalis</i> es necesario llegar a la tercera porción del duodeno.• Como método alternativo, existe la posibilidad de la cápsula duodenal (entero-test).
3. Volumen mínimo	
	<ul style="list-style-type: none">• De 0,5 a 3 ml de aspirado duodenal.

Conservación y transporte.

- En un recipiente estéril de boca ancha, tubo de vacío o tubo de tapón de rosca, si se envía y procesa rápidamente.
- Fijado en PVA o formalina al 5% si hay demora en el transporte o procesamiento.
- Mantener las muestras a temperatura ambiente.

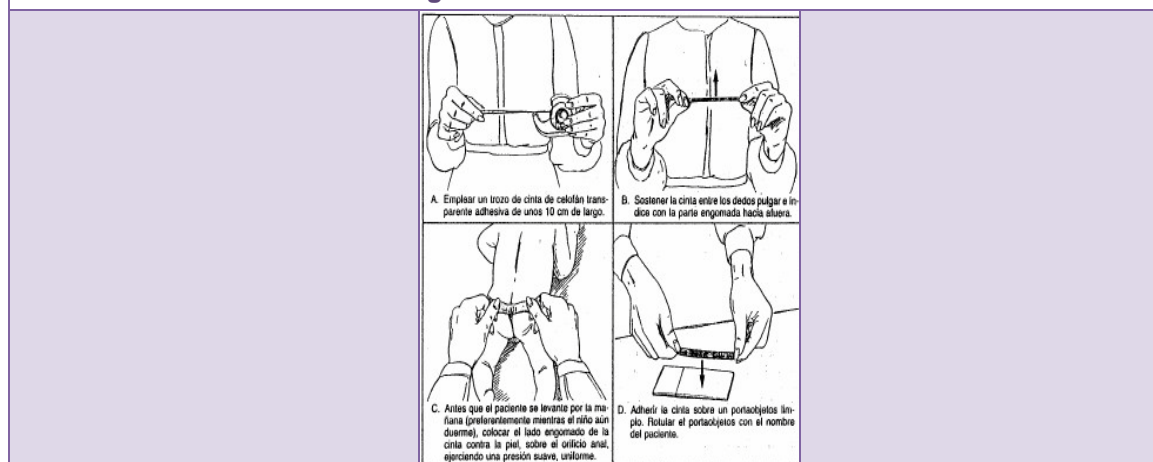
ESTUDIO PARASITOLÓGICO: INVESTIGACIÓN DE OXIUROS

En la parasitación por *Enterobius vermicularis* no se buscan los huevos en las heces, sino en los márgenes del ano, que es donde la hembra va a depositarlos

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none"> • Se utiliza un pedazo de cinta adhesiva, fixo o papel celo transparente.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none"> • Por la mañana, antes de levantarse el paciente, se separan las nalgas y se hace presión hacia ambos márgenes, para que en la cara engomada queden adheridos los huevos. La cinta adhesiva se coloca sobre un portaobjetos con la cara engomada hacia el cristal, y se envía al laboratorio en un sobre o envuelto en varias capas de papel (Figura 1).

Figura 1: Técnica de Graham





Conservación y transporte.

- Mantener a temperatura ambiente hasta su envío al laboratorio de Microbiología

Criterios de rechazo de las muestras.

- Muestras no identificadas correctamente.
- Heces transportadas inadecuadamente.
- Heces contaminadas con orina o agua.
- Más de una muestra tomada el mismo día.
- Torundas.



MUESTRAS GENITALES

Introducción.

Las muestras genitales se obtienen de zonas altamente colonizadas por flora comensal por lo que la selección de las muestras y los métodos de obtención son críticos.

El estudio de anaerobios debe limitarse a ciertas muestras, las muestras habituales (exudados vaginales, cervicales etc.) no son válidas.

Tipo de muestras: Exudados vaginales, Exudados cervicales, Exudados uretrales, Exudados rectales, Endometrio.

TRACTO GENITAL FEMENINO: EXUDADOS VAGINALES.

Muchos de los agentes productores de infecciones genitales (vaginitis, cervicitis, uretritis...) en la mujer tienen un área específica donde la rentabilidad diagnóstica es mayor.

Las muestras para investigación de Virus herpes simple (VHS) y Papilomavirus (VPH) necesitan de protocolos y material específico.

Los principales microorganismos productores de infecciones vaginales en la mujer son los siguientes:

Frecuentes:

- *Candida* spp
- *Trichomonas vaginalis*
- Infec. Polimicrobianas
- Vaginosis bacteriana (*Gardnerella vaginalis*)
-

Raros:

- Virus herpes simple (VHS)
- Papilomavirus (VPH)



Obtención de la muestra.

Debido a las características especiales de este tipo de muestra, la toma deberá realizarse en el Laboratorio de Microbiología, con personal cualificado para ello. Se debe remitir a la paciente al Laboratorio, solicitando cita previa.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Camilla ginecológica.• Espéculo estéril• Torundas de alginato cálcico o Dacron, con medio de transporte.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Explicar a la paciente la exploración a realizar• Colocar a la paciente en posición ginecológica e introducir un espéculo "sin lubricante" (utilizar agua templada si es necesario).• Recoger la muestra, bajo visión directa, con una torunda, haciéndola rotar durante unos segundos sobre la zona con mayor exudado, o en su defecto, del fondo del saco vaginal posterior.• Repetir la operación con la segunda torunda.
3. Número de muestras.	
	<ul style="list-style-type: none">• Se obtendrán al menos dos torundas, una destinada al estudio microscópico y el resto para los cultivos.• Para cultivo de Mycoplasma/Ureaplasma y/o clamidias obtener muestras complementarias con las torundas apropiadas.

Conservación y transporte.

- El envío de la muestra debe ser inmediato, siempre que sea posible.
- Cuando la muestra NO pueda procesarse antes de 15 minutos, deberán emplearse torundas con medio de transporte tipo Stuart-Amies, que se mantendrán a temperatura ambiente, o preferentemente, en estufa 35-37°C hasta su procesamiento. En todo caso la siembra se realizará antes de 3-6horas.



Criterios de rechazo.

- No son válidas las torundas secas sin medios de transporte.
- Muestras de más de 1 horas a partir de la hora de obtención sin medio de transporte adecuado.

Observaciones.

- Los exudados vaginales no son muestras adecuadas para la investigación de *Neisseria gonorrhoeae*.
- Si se sospecha infección por *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* o *Ureaplasma urealyticum*, la muestra más adecuada es el exudado endocervical.
- Si se sospecha una vaginosis bacteriana es imprescindible realizar en el momento de la toma la determinación de 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.
- La investigación de *Streptococcus agalactiae* o *Listeria monocytogenes* sólo se realizará con petición específica y motivada
- No deben utilizarse en los días previos a la recogida de la muestra, soluciones antisépticas vaginales, óvulos ni pomadas.

TRACTO GENITAL FEMENINO: EXUDADOS CERVICALES

Los exudados cervicales son las muestras más adecuadas cuando se sospecha infección por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*.

Los principales microorganismos productores de infecciones cervicales (cervicitis) en la mujer son los siguientes:

Frecuentes:

- *C. trachomatis*
- *N. gonorrhoeae*

Menos frecuentes:

- Virus herpes simple (VHS)



- Papilomavirus (VPH)

Raros:

- *T. vaginalis*
- *C. albicans*
- *U. urealyticum*

Obtención de la muestra.

Debido a las características especiales de este tipo de muestra, la toma deberá realizarse en el Laboratorio de Microbiología, con personal cualificado para ello. Se debe remitir a la paciente al Laboratorio, solicitando cita previa.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Camilla ginecológica.• Espéculo estéril• Torundas secas sin medio de transporte (para limpieza de exocérvix).• Torundas de alginato cálcico o Dacron, con medio de transporte tipo Stuart-Amies.• Torundas con medios de transporte específicos para micoplasmas y clamidias (consultar con el Laboratorio de Microbiología).
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Con la paciente en posición ginecológica se introduce suavemente el espéculo sin lubricar (o lubricado con agua templada).• Limpiar el exocérvix de secreciones vaginales, con una torunda seca.• Comprimir cuidadosamente el cérvix con las palas del espéculo e introducir una torunda en el canal endocervical con un suave movimiento de rotación.• Se repetirá la operación con las diferentes torundas.
3. Número de muestras y volumen mínimo.	
	<ul style="list-style-type: none">• Deberán recogerse dos torundas, una destinada al examen microscópico y otra al cultivo.• Para investigación de Mycoplasma y Chlamydia se recogerá con las torundas correspondientes, con medio de transporte específico.

4. Etiquetado

- Incluir en la etiqueta el tipo de muestra y los datos del paciente
- Indicar el diagnóstico de sospecha.

Conservación y transporte.

- El envío de la muestra debe ser inmediato, siempre que sea posible.
- Cuando la muestra NO pueda procesarse antes de 15 minutos, deberán emplearse torundas con medio de transporte tipo Stuart-Amies, que se mantendrán a temperatura ambiente, o preferentemente, en estufa 35-37°C hasta su procesamiento. En todo caso la siembra se realizará antes de 3-6 horas.
- No puede garantizarse la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.

Criterios de rechazo.

- No son válidas las torundas secas sin medios de transporte
- Demora de más de 1 hora a partir de la hora de obtención de la muestra sin medio de transporte adecuado.

Observaciones.

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

TRACTO GENITAL MASCULINO: EXUDADOS URETRALES

Las muestras se obtienen de zonas altamente colonizadas por flora comensal por lo que la selección de las muestras y los métodos de obtención son críticos. La supuración espontánea no es una muestra válida por el alto número de comensales y las dificultades de la interpretación de los cultivos. Los agentes productores de infecciones genitales en el hombre tienen un área específica (2-3 cm en el interior de la uretra) donde la rentabilidad es mayor.



Los principales microorganismos productores de uretritis son los siguientes:

Frecuentes:

- *N. gonorrhoeae*
- *C. trachomatis*

Menos frecuentes:

- *U. urealyticum*
- Bacilos gramnegativos

Raros:

- *T. vaginalis*
- *M. genitalium*

Obtención de la muestra.

Debido a las características especiales de este tipo de muestra, la toma deberá realizarse en el Laboratorio de Microbiología, con personal cualificado para ello. Se debe remitir al paciente al Laboratorio, solicitando cita previa.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Torundas uretrales finas, de alginato cálcico o Dacron con medios de transporte tipo Stuart-Amies.• Gasas estériles.• Asa de siembra de platino.• Torunda y medio de transporte especial para <i>C. trachomatis</i> (consultar con el Laboratorio de Microbiología)
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Cuando exista exudado franco puede recogerse con una torunda o con un asa de siembra de platino. El exudado puede estimularse exprimiendo la uretra. Cuando no se obtenga exudado se introducirá una torunda suavemente con un movimiento de rotación hasta penetrar unos 2 cm. Dentro de la uretra (3-5 cm para investigación de <i>C. trachomatis</i> torunda especial).• Repetir la operación con una segunda y una tercera torunda.



3. Número de muestras.

- Deberán enviarse tres torundas, una destinada al examen microscópico otra para cultivo y otras para la investigación de clamidia/micoplasma

Conservación y transporte.

- No refrigerar las muestras, especialmente si se sospecha *N. gonorrhoeae*.
- El transporte debe ser inmediato.
- Cuando no puedan procesarse las muestras antes de 15 minutos, se utilizarán torundas con medio de transporte Stuart-Amies que se mantendrán a temperatura ambiente o preferentemente en estufa a 35-37°C.
- Las muestras se procesarán siempre que se pueda antes de 3 horas, y como máximo en un plazo de 6-12 horas.

Criterios de rechazo.

- No son válidas las torundas secas sin medios de transporte
- Muestras de más de 1 hora a partir de la hora de obtención sin medio de transporte adecuado

Observaciones.

- La muestra ha de recogerse preferentemente antes de la primera micción de la mañana. Si es imposible, esperar al menos una hora tras la última micción para recogerla.

TRACTO GENITAL MASCULINO: MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE PROSTATITIS CRÓNICA.

La obtención de muestras de secreciones prostáticas obtenidas tras masaje está indicado en el diagnóstico de las prostatitis crónicas y se deben acompañar de muestras de orina pre y post-masaje. El masaje prostático está contraindicado en los casos de prostatitis aguda.



Los principales microorganismos productores de prostatitis son los siguientes:

Frecuentes:

- *E. coli*
- Otras enterobacterias

Menos frecuentes:

- *Enterococcus* spp.
- *S. aureus*

Raros:

- *N. gonorrhoeae*
- *H. influenzae*
- *M. tuberculosis*
- *C. trachomatis*
- *U. urealyticum*
- *T. vaginalis*

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Se preparará el mismo material que para un urocultivo y cuatro contenedores estériles que deberán ir 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).• "F-4" o "Frasco-4" (orina post-masaje).
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Retraer el prepucio y limpiar el meato y el glande igual que para un urocultivo.• Pedir al paciente que orine, recogiendo los primeros 10 ml. en el primer contenedor "F-1".• Recoger los siguientes 10 ml. en el segundo contenedor "F-2". Esta porción corresponde a la "micción media".• Interrumpir la micción antes de que se haya vaciado totalmente la vejiga



	<ul style="list-style-type: none">• Hacer un masaje prostático y recoger el fluido en el tercer contenedor ("F-3" masaje prostático). Si no se produce fluido, presionar la uretra en su totalidad 30 segundos. Tras el masaje, acabará saliendo fluido prostático por el meato.• Finalmente se pedirá al paciente que orine y se recogerán los 10 ml primeros de orina en un cuarto recipiente ("F-4" orina postmasaje).
3. Número de muestras y volumen mínimo.	
	<ul style="list-style-type: none">• Frasco 1: 10 ml.• Frasco 2: 10 ml.• Frasco 3: Toda la muestra que se obtenga.• Frasco 4: 10 ml.• Incluir en cada uno de los frascos etiquetas con información del paciente y el número de frasco.

Conservación y transporte.

- Las muestras deberán procesarse antes de 1 hora. Para períodos más prolongados se deberán mantener en nevera a 4°C hasta un máximo de 24 horas.

Criterios de rechazo.

- 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.

Observaciones.

- Se realizarán cultivos cuantitativos.
- Cuando el número de bacterias del frasco-1 es mayor que el 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.



HEMOCULTIVOS

Introducción.

La sangre de los individuos sanos es estéril. En el caso de infecciones graves o en complicaciones de una infección primaria puede haber una afluencia de bacterias al torrente sanguíneo. Esta afluencia puede ser eliminada en un periodo de tiempo corto, minutos u horas, o bien persistir cuando existe una infección masiva o está presente un foco intravascular infectado. BACTERIEMIA o FUNGEMIA son los términos empleados para designar la presencia de bacterias u hongos en el torrente sanguíneo.

La entrada de gérmenes en el torrente sanguíneo se produce desde:

- Un foco primario, vía linfática (abscesos, colangitis, neumonía, etc.)
- Infecciones intravasculares- (endocarditis)
- Infecciones por manipulaciones médicas (catéteres, agujas, prótesis, etc.)

Siempre que exista una sospecha de bacteriemia, debe realizarse un cultivo de sangre ya que es la única forma de establecer el diagnóstico etiológico y permite un tratamiento más eficaz.

Las principales indicaciones para realizar un hemocultivo son:

- Fiebre alta, aunque en ancianos y niños puede existir una bacteriemia con hipotermia y deterioro general.
- Shock no explicado.
- Infecciones localizadas (neumonías, pielonefritis, meningitis...).
- Leucopenia, leucocitosis o trombopenia no hematológica.

Microorganismos más frecuentes:

- Se puede encontrar cualquier tipo de microorganismo patógeno.
- Microorganismos habituales de piel como estafilococos coagulasa negativos, corynebacterias, estreptococos alfa hemolíticos, etc. aislados



en un solo frasco seriado pueden ser considerados como probable contaminación durante la extracción o la manipulación del hemocultivo. Solamente en el caso de ser aislados en más de un frasco y en pacientes inmunodeprimidos, portadores de catéteres, prótesis, hemodializados, etc. Se podrán valorar como infección dependiendo del historial clínico del paciente.

Obtención de la muestra.

1. Situaciones a tener en cuenta:	
	<ul style="list-style-type: none">• Efectuar siempre la extracción antes de iniciar la terapia antibiótica; en pacientes en los que ya se haya iniciado el tratamiento antibiótico y en los que no se considere conveniente retirarlo, deberá realizarse la extracción justo antes de la administración de una dosis.• En bacteriemias intermitentes debe realizarse cuando el paciente tiene escalofríos o durante el pico febril.• En bacteriemias continuas de origen intravascular, en cualquier momento.• En sepsis agudas y en pacientes en situación crítica se considerará como un procedimiento de urgencia.
2. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Frascos de hemocultivo• Garrote de goma.• Jeringas y agujas de punción IV o sistema de vacío.• Gasas estériles.• Guantes estériles.• Alcohol etílico o isopropílico al 70%
3. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Explicar al paciente el procedimiento básico de la extracción.• Lavado de manos y utilización de guantes estériles• Retirar los tapones externos de los frascos• Desinfectar los tapones de goma con alcohol alcohol etílico o isopropílico al 70%, dejar secar al menos un minuto. No utilizar compuestos con yodo.• Localizar por palpación la vena que se va a puncionar. Debe de utilizarse una vena distinta para cada extracción.• Desinfectar con alcohol la zona de unos 10 cm de diámetro, durante 1 minuto.



	<ul style="list-style-type: none">• Extraer la sangre sin tocar el campo desinfectado, si fuese necesario palpar la vena, deberá desinfectarse la zona nuevamente y los dedos.• Introducir la sangre en los frascos evitando que entre aire en el frasco anaerobio, mover los frascos para que la sangre se mezcle con el medio de cultivo. Se inoculará en primer lugar el frasco anaerobio.
4. Número de muestras y volumen mínimo.	
	<ul style="list-style-type: none">• Siempre se deben realizar un mínimo de 2 extracciones y es preferible realizar 3, con un intervalo de una hora; si existe gran urgencia de iniciar el tratamiento, puede acortarse hasta 15 a 30 minutos entre ellas.• En adultos cada extracción debe de llevar dos frascos, aerobio (frasco de tapón azul) y anaerobio (frasco de tapón dorado).• En niños pequeños en que no se pueden obtener volúmenes grandes de sangre es suficiente una cantidad de 1-5 ml, que se introduce en un solo frasco aerobio.• En caso de sepsis o endocarditis subagudas las extracciones se reparten en 24 horas y si al día siguiente son negativos, se realizan tres nuevos hemocultivos.• La cantidad de sangre a introducir en cada frasco es de 8-10 ml en adultos por frasco y 1-5 ml en los niños.• Como norma general, es adecuado que la sangre mantenga una proporción 1/10 con el medio de cultivo. Es decir, si el frasco tiene 80 ml de medio de cultivo, como es nuestro caso, introducir 8 ml de sangre.• En neonatos o lactantes, de 0,5 a 1 ml en frasco aerobio.
5. Etiquetado	
	<ul style="list-style-type: none">• Los frascos de hemocultivo deben de ir etiquetados de forma correcta, al mismo tiempo, debe indicarse si es 1ª, 2ª ó 3ª extracción en cada frasco.• No se deben colocar los datos identificativos del paciente sobre los códigos de barras de los frascos de los hemocultivos.

Conservación y transporte.

- El transporte debe de ser inmediato o en el menor tiempo posible.
- Cuando lleguen al Laboratorio de Microbiología, mantener a temperatura ambiente. **NUNCA DEBEN REFRIGERARSE.**



Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

Observaciones.

- Se deberá incluir en la petición la máxima información clínica. En el caso de sospecha de determinados organismos (*Brucella* spp, *Neisseria meningitidis*, hongos, micobacterias, etc.), indicarlo en el volante para que el laboratorio de Microbiología aplique las técnicas necesarias.
- Cuando no haya venas accesibles puede realizarse la extracción de sangre arterial.
- No son adecuadas las muestras procedentes de catéter, solamente en el caso de que se sospeche infección del propio catéter, se recomienda tomas del brazo opuesto y del brazo del catéter, para saber si es intra o extraluminal.



CATÉTERES

CATÉTERES INTRAVASCULARES

Introducción.

Un 80% de las bacteriemias nosocomiales se relacionan con la presencia de catéteres. Su estudio bacteriológico permitiría filiar el origen de gran parte de las bacteriemias.

Microorganismos más frecuentes:

- Los microorganismos más frecuentes causantes de la colonización e infección del catéter son: *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Candida* spp, enterobacterias, etc.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Guantes de goma estériles• Gasas estériles• Pinzas y tijeras estériles• Recipiente estéril con tapa de rosca• Alcohol etílico o isopropílico al 70%• Alcohol iodado al 2% o un yodóforo al 10%
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Lavado de manos y utilización de guantes estériles.• Desinfectar con alcohol una zona de piel de unos 10 cm correspondiente a la zona de entrada del catéter. Hacerlo de forma circular comenzando por el centro.• Repetir la misma operación, pero con el alcohol iodado o yodóforo, dejando que se seque un minuto.• Retirar el catéter con la máxima asepsia, una vez extraído, con la ayuda de las pinzas y las tijeras estériles cortar 3-4 cm de la porción intravascular e introducirlo en el recipiente estéril.



Conservación y transporte.

- La muestra deberá enviarse al laboratorio en un periodo inferior a 30 minutos. Cuando esto no sea posible conservar en nevera a 4° C.



OTROS CATÉTERES Y DRENAJES

Son muestras que no se procesan habitualmente. En casos especiales, se recomienda contactar con el servicio de Microbiología, antes de remitirlas.

SISTEMA OCULAR

EXUDADOS CONJUNTIVALES

Introducción.

Las muestras conjuntivales están indicadas para filiar la etiología de las conjuntivitis infecciosas en las que mayoritariamente se observan signos inflamatorios a este nivel. La etiología más habitual es bacteriana o vírica.

Los cultivos conjuntivales preoperatorios no están indicados porque el número y microorganismos de la conjuntiva normal varían diariamente.

Obtención de la muestra

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte Stuart-Amies.• Suero salino estéril.• Medio de transporte para Chlamydia y virus, si procede (consultar con el laboratorio de Microbiología).
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Debe obtenerse la muestra antes de la instilación de los analgésicos locales, colirios o antibióticos.• Con una torunda mojada en un suero fisiológico frotar sobre la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix.• Para la investigación de Chlamydia trachomatis, revertir el párpado y frotar con una torunda especial la superficie conjuntival.
3. Número de muestras.	
	<ul style="list-style-type: none">• Deberá utilizarse una torunda para cada ojo.



Conservación y transporte.

- El transporte deberá ser inmediato. Cuando no sea posible, se utilizarán hisopos con medio de transporte tipo Stuart-Amies, que se mantendrá a temperatura ambiente. Para *Chlamydia* o virus se utilizará medio de transporte específico.

Conservación y Transporte.

- Es especialmente importante remitir la muestra inmediatamente al Laboratorio de Microbiología.
- Si hay demora, mantenerla en estufa 35-37°C.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

RASPADOS CORNEALES

Introducción.

Los raspados corneales están indicados en las queratitis y úlceras corneales. Su toma la debe realizar el especialista de oftalmología.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Espátula de platino flexible de Kimura.• Anestésico local (clorhidrato de propacaína al 0,5%).• Portas limpios con círculos marcados.• Vaso de Koplín con metanol al 95% o fijación por calor.• Medios de transporte y/o cultivo específico.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Instilar uno o dos gotas de anestésico. Preferentemente se utilizará clorhidrato de propacaína, ya que es el anestésico local que inhibe menos el crecimiento bacteriano.• Raspar suavemente con la espátula de Kimura la



	<p>conjuntiva tarsal inferior, sin inducir el sangrado.</p> <ul style="list-style-type: none">• Realizar el raspado de múltiples áreas de ulceración.• Es importante que cada raspado se inocule directamente en el medio de cultivo, por lo que se avisará previamente al Servicio de Microbiología Clínica que desplazará al personal y/o material necesario para ello.
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Conservación y transporte.

- Los medios de cultivo inoculados serán transportados inmediatamente al laboratorio de microbiología.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

LENTE DE CONTACTO - LENTE INTRAOCULAR

Introducción.

Ante la sospecha de infección ocular producida por una lente de contacto se remitirá la lente completa y se complementará con un raspado corneal de la úlcera.

Obtención de muestras.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Tubo o tarro estéril
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Remitir la lente y/o cuerpo extraño.• Las soluciones de las lentes de contacto se debe enviar en la mayor cantidad posible.• Si la lente de contacto ha provocado una úlcera, la realización de raspado corneal con espátula estéril es indispensable. La muestra se debe tomar del lecho y borde de la úlcera previa limpieza de la lesión.



Conservación y transporte.

- Enviar inmediatamente al Laboratorio de Microbiología.
- Mientras tanto mantener placas y tubos inoculados en estufa 35-37°C.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.



TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

OÍDO EXTERNO: EXUDADO ÓTICO

Introducción.

Los exudados óticos están indicados en las otitis externas. Los principales agentes causales son bacterias y hongos.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Torundas de algodón o espátulas.• Un antiséptico suave (ej. Cloruro de Benzalconio al 1/100).
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Limpieza del oído externo con un antiséptico suave. Se tomará la muestra mediante frotis con 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.
3. Número de muestras.	
	<ul style="list-style-type: none">• Una torunda para cada oído.

Conservación y transporte.

- Si las muestras no pueden enviarse inmediatamente se emplearán medios de transporte para bacterias tipo Stuart-Amies, que se mantendrán a temperatura ambiente.

Criterios de rechazo.

- No se aceptarán estas muestras para el diagnóstico de la otitis media. Suele tratarse de muestras de mala calidad y en ningún caso resultan representativas de los microorganismos existentes en oído medio.
- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.



OÍDO MEDIO: EXUDADO ÓTICO

Introducción.

La muestra más adecuada es el aspirado del oído medio, obtenida por timpanocentesis. No conviene usar escobillón, pues habitualmente se contamina con la flora normal del oído externo, haciendo la interpretación de resultados difícil y confusa.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• El de una miringocentesis (Timpanocentesis).• Torundas estériles.• Contenedor estéril.• Medio de transporte para anaerobios.• Povidona yodada al 10%.
2. Técnica	
a) Timpanocentesis	<ul style="list-style-type: none">• Debe obtener la muestra un especialista en O.R.L. o personal entrenado para ello.• Se limpiará el canal auditivo externo con una torunda impregnada en Povidona yodada.• Se puncionará el tímpano a través de un otoscopio estéril.• La muestra se enviará en un contenedor estéril. Cuando sea escasa se tomará con torunda, aunque no es lo más recomendable.• Si se desea la investigación de anaerobios, se enviará el fluido en un medio de transporte específico.• Las muestras en torunda no sirven para cultivo de anaerobios.
b) Muestras con tímpano roto:	<ul style="list-style-type: none">• Tras la limpieza del canal externo se tomará la muestra con torunda a través de un otoscopio estéril.• Estas muestras no son válidas para anaerobios.• El fluido suele colonizarse con flora de CAE, con lo que la interpretación de los resultados es siempre complicada.
3. Número de muestras y volumen mínimo.	
	<ul style="list-style-type: none">• Se intentará obtener la mayor cantidad de exudado posible.



Conservación y transporte.

- El transporte deberá ser inmediato.
- Cuando exista demora se utilizará un medio de transporte.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

EXUDADO FARINGO-AMIGDALINO

Introducción.

Es la muestra adecuada en caso de faringo-amigdalitis. Se investigará sobre todo la presencia de estreptococos β hemolíticos.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Depresor lingual.• Torunda de algodón con medio de transporte.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Con la ayuda de un depresor lingual, bajo visión directa, se tocará con la 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.
3. Número de muestras.	
	<ul style="list-style-type: none">• Sólo una torunda.

Conservación y transporte.

- No requiere medidas especiales para su transporte y conservación (temperatura ambiente).



Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

Observaciones.

- Se investigará rutinariamente la presencia de *S. pyogenes*.
- En las sospechas de difteria deberán mandarse porciones de membrana, una torunda faríngea, y una torunda nasofaríngea por vía pernasal.

EXUDADOS NASOFARINGEOS

Introducción.

Es la muestra indicada para la investigación de *Bordetella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae* y virus respiratorios o para la detección de portadores de *Staphylococcus aureus* o *Neisseria meningitidis*.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Torundas flexibles de alginato cálcico.• Para aspirados: Tubo aspirador de Teflón o jeringa y catéter.
2. Técnica	
Frotis:	<ul style="list-style-type: none">• 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.
Aspirado:	<ul style="list-style-type: none">• Aspirar el moco, pasando el tubo de teflón o un catéter conectado a una jeringa por vía pernasal, de igual forma que la torunda.
3. Número de muestras.	
	<ul style="list-style-type: none">• Se obtendrá una muestra.



Conservación y transporte.

- Remitir lo antes posible al laboratorio de Microbiología.
- Las muestras deben procesarse antes de 2 horas, conservar a T^a ambiente.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

Observaciones.

- Los microorganismos encontrados en fosa nasal no tienen por qué ser los mismos que se aíslan en el seno en caso de sinusitis, por lo que los cultivos de exudados nasales no sirven para el diagnóstico etiológicos de las sinusitis y no pueden sustituir nunca a la punción del seno.

EXUDADOS DE SENOS PARANASALES

Introducción

La muestra se obtendrá por punción-aspiración, y la realizará el especialista en O.R.L. o personal especializado en dicha técnica.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Povidona yodada al 10%.• Contenedor estéril.• Medio de transporte para anaerobios.• Material quirúrgico de O.R.L.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Desinfectar el lugar de la punción con povidona yodada.• Introducir una aguja en el antrum maxilar por debajo del cornete inferior, o en el seno frontal por debajo del marco supraorbital del ojo.• Aspirar el líquido del seno. Cuando no se obtenga líquido,



	instilar 1 ml. de suero salino estéril y aspirarlo nuevamente. <ul style="list-style-type: none">• Inyectar una parte de la muestra en un medio de transporte para anaerobios y enviar el resto en un contenedor estéril o en la propia jeringa.
3. Número de muestras.	
	<ul style="list-style-type: none">• Se intentará obtener al menos 1 ml. de muestra.

Conservación y transporte.

- Enviar inmediatamente al laboratorio o utilizar un medio de transporte.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

EXUDADOS DE CAVIDAD ORAL

Introducción.

Esta muestra se emplea habitualmente para el diagnóstico de candidiasis y de la "Angina de Vincent".

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Torundas de algodón sin medio de transporte.• Portas limpios.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Se pedirá al paciente que se enjuague la boca con agua.• Tras enjuagar la boca, frotar o raspar las lesiones con una espátula o con una torunda y hacer una extensión sobre un porta.
3. Número de muestras.	
	<ul style="list-style-type: none">• 1 extensión en porta + 1 torunda.• Se repetirá la toma con una segunda torunda para cultivo (sólo para la investigación de <i>Candida albicans</i>).



Conservación y transporte.

- No requiere medidas especiales para su transporte y conservación.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

EXUDADOS NASOFARINGEOS: Estudio de virus de la gripe

Los hisopos o escobillones para la toma deben cumplir una serie de requisitos:

- Emplear hisopos de material sintético (ej: Dacron).
- **NO utilizar:**
 - Escobillones con vástago de madera
 - Hisopos de alginato cálcico
- Introducir el hisopo, tras la toma, en un tubo con medio de transporte para virus (MTV) para su transporte y conservación. Es preferible el medio líquido al gelificado. El tubo debe tener tapón de rosca para evitar vertidos.

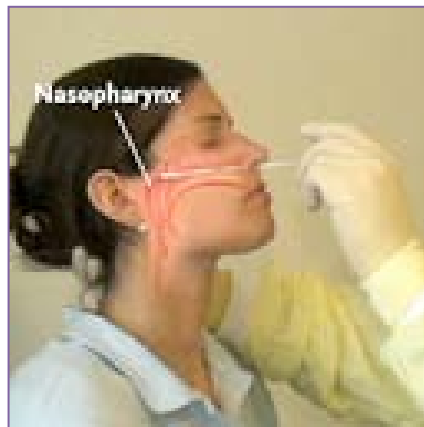
Toma de muestras respiratorias para la confirmación virológica de casos de gripe.

Toma de frotis faríngeo:

- Se realizará un escobillado de la faringe frotando a nivel de las amígdalas, recogiendo células de descamación de la mucosa faríngea. No se debe recoger moco o saliva, ya que podrían contaminar la muestra.
- Introducir a continuación el hisopo en el tubo con medio MTV, removiéndolo bien en su interior para conseguir una buena emulsión del exudado.
- En este momento, o bien a la llegada al laboratorio, retirar la torunda presionándola previamente contra las paredes del tubo y cerrarlo bien.

Toma de frotis nasofaríngeo:

- Se utilizará un hisopo para nasofaringe (más fino y flexible) que se deslizará suavemente por la base de la cavidad nasal de forma paralela al suelo de la fosa, hasta tocar la pared posterior de la nasofaringe.
- Al tocar la pared posterior de la nasofaringe, se realizarán unos ligeros movimientos de rotación y se retirará la torunda.



Toma de un frotis nasofaríngeo (Tomada de:
<http://content.nejm.org/cgi/content/full/NEJMe0903992/DC1>)

Para la toma de dos frotis, uno nasal y otro faríngeo se procederá de la siguiente forma:

- Frotis nasal: introducir la torunda estéril en la fosa nasal, de forma paralela al paladar, dejar unos segundos y retirar lentamente con movimientos de rotación. Utilizar la misma torunda para las dos fosas nasales.
- Frotis faríngeo: proceder como se describe anteriormente.
- **Introducir ambas torundas en el medio MTV, cortando el bastón del hisopo para cerrar bien el tubo.**

Normas para el transporte de muestras.

Mantener las muestras en nevera (4°C) hasta su envío al laboratorio. Siempre que sea posible, y especialmente durante el verano, se procurará mantenerlas a 4°C durante el transporte, utilizando acumuladores de frío. Desde la toma de muestra hasta el procesamiento en el laboratorio no deben pasar más de 48 horas. Si se prevén tiempos más largos, se deben congelar las muestras a -80°C y mantener la congelación durante el transporte.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que las tres partes implicadas en el transporte (remitente, destinatario y empresa de transporte) establezcan anticipadamente una adecuada coordinación para asegurar que el material sea transportado de forma segura, en los embalajes adecuados y que llegue a su destino oportunamente y en buenas condiciones.

Clasificación del envío: Antes de proceder al transporte es necesario clasificar el material. En la actualidad, tanto **las muestras clínicas para detección del Nuevo virus de la gripe A/H1N1, como el virus cultivado, se consideran incluidos en la categoría B (UN 3373).**

Tipo de embalaje: se deberá utilizar el sistema triple básico, compuesto por los tres niveles de contención recomendados por la OMS. (Este embalaje es el mismo para remitir sustancias infecciosas contenidas en la categoría A (UN 2814) como las de categoría B (UN 3373).

- **Recipiente primario:** contiene la muestra clínica y debe ser estanco, a prueba de filtraciones y estar bien etiquetado. Este recipiente se envuelve en material absorbente para retener todo el fluido en caso de ruptura.
- **Embalaje/envase secundario:** un segundo recipiente estanco, a prueba de filtraciones, que encierra y protege al primario. Debe ser irrompible, con tapa de cierre hermético y puede ir también envuelto en material absorbente. **Los formularios de datos, historia clínica etc. deben estar en el exterior** de este recipiente.
- **Embalaje/envase exterior:** Los embalajes/envases secundarios se colocan en embalajes/envases exteriores de expedición con un material amortiguador adecuado. Los embalajes exteriores protegen el contenido de los elementos exteriores, como daños físicos, mientras el bulto se encuentra en tránsito. Ninguna de las caras del embalaje/envase exterior tendrá dimensiones inferiores a 10x10 cm. Cada embalaje/envase preparado para su expedición deberá estar correctamente marcado y etiquetado e ir acompañado de una copia del **FORMULARIO DE NOTIFICACIÓN DE CASO** debidamente cumplimentado y un **VOLANTE DE MICROBIOLOGÍA DEBIDAMENTE CUMPLIMENTADO.**

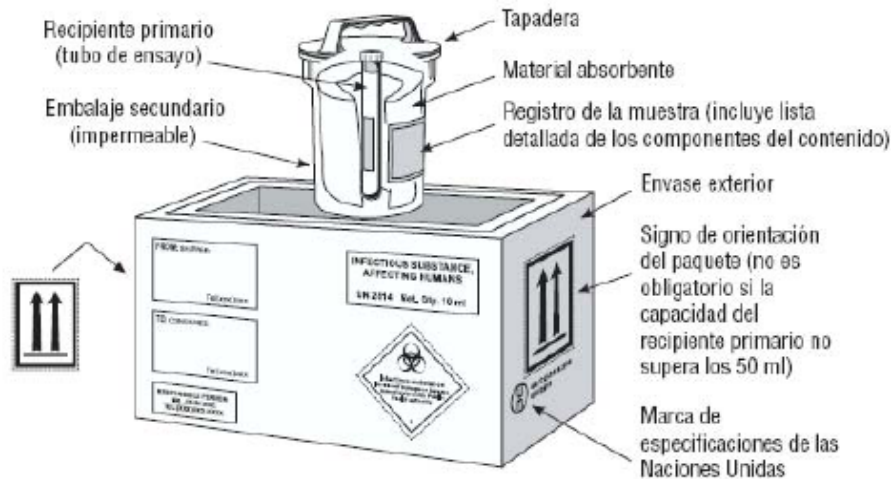


Figura 1. Ejemplo de sistema de embalaje triple para el embalaje y etiquetado de sustancias infecciosas de categoría A (por cortesía de la IATA, Montreal, Canadá)

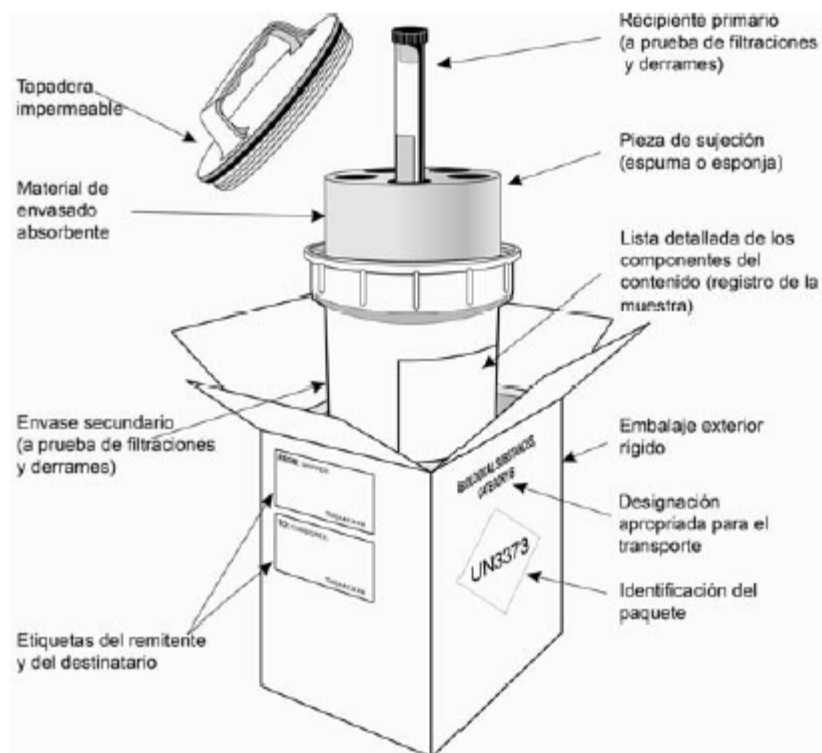


Figura 2. Ejemplo de sistema de embalaje/ensado triple para el embalaje y etiquetado de sustancias infecciosas de categoría B (por cortesía de la IATA, Montreal, Canadá)

Fuente: Guía de las OMS sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas. 2009-2010.



TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

Introducción.

Una muestra de esputo bien recogida puede ser muy útil para establecer el diagnóstico etiológico de una infección del tracto respiratorio inferior (neumonía, bronquitis, tuberculosis pulmonar, etc.).

En ocasiones el paciente no consigue expectorar, por lo que puede ser necesario inducir el esputo mediante nebulizadores o realizar un estudio broncoscópico para obtener secreciones del tracto respiratorio inferior.

Es importante una cuidadosa recolección de las muestras, ya que es muy fácil la contaminación con flora orofaríngea, lo que haría que los resultados sean clínicamente irrelevantes.

La calidad de las muestras se debe establecer por examen microscópico directo. Una muestra recogida de forma adecuada contiene un mínimo de células epiteliales escamosas y un número significativo de leucocitos polimorfonucleares.

Indicaciones:

- Se debe solicitar estudio microbiológico de esputo en pacientes con sospecha de bronquitis o neumonía bacteriana.
- Cuando el diagnóstico clínico y/o radiológico sea de “neumonía atípica”, o las circunstancias epidemiológicas hagan probable un determinado patógeno, este hecho debe ser expresado en el volante de petición. Ello permite incluir técnicas para la búsqueda de *Legionella* spp, (que requiere medios de cultivo selectivos) o los distintos virus respiratorios.
- El estudio microbiológico del esputo está también indicado ante toda sospecha de tuberculosis pulmonar.
- Las muestras broncoscópicas deben ser obtenidas de pacientes graves que no expectoran o cuando los resultados del esputo no son significativos o de fácil interpretación. En cualquier caso, la indicación de la broncoscopia debe establecerla siempre el especialista.

ESPUTO

Si el esputo contiene gran proporción de saliva, no constituye una muestra representativa de la situación existente en el tracto respiratorio inferior por su mezcla con secreciones procedentes de todo el tracto traqueo-bronquial y con la flora saprofita de la orofaringe.

La presencia en la muestra de gran número de células epiteliales indica contaminación con flora orofaríngea, por lo que estas muestras no deben ser cultivadas, excepto para cultivo de *Legionella* spp.

Por lo tanto:

- Se debe instruir correctamente al paciente para reducir el número de muestras inadecuadas.
- La muestra mejor es la obtenida de la primera expectoración de la mañana.
- Todas las muestras del tracto respiratorio inferior deben manejarse con las precauciones necesarias para trabajar con *Mycobacterium tuberculosis*.
- Las muestras de esputo no son útiles para el cultivo de anaerobios.
- Una muestra única, recogida adecuadamente, suele ser suficiente para el diagnóstico de infección bacteriana del tracto respiratorio inferior.
- Para el estudio de micobacterias (diagnóstico de tuberculosis) es conveniente obtener 2 ó 3 de muestras de días diferentes. Si el paciente no está ingresado, se puede mantener las muestras en la nevera hasta obtenerlas todas, y llevarlas a la vez al laboratorio.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none"> • Frasco estéril de boca ancha y tapón de rosca. • Suero fisiológico estéril y nebulizador (sólo para esputo inducido).
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none"> • Instruir al paciente sobre la diferencia entre expectoración (esputo) y saliva.



- Hacer que el paciente se enjuague la boca con agua. Para pacientes con dentaduras postizas, éstas deben ser quitadas primero.
- Explicar al paciente que debe obtener un esputo tras una expectoración profunda, preferentemente la primera de la mañana.
- Recoger el esputo directamente en el contenedor (frasco estéril), y tapar bien con el tapón de rosca.
- Si el paciente no consigue expectorar espontáneamente puede inducirse el esputo con nebulizaciones de suero fisiológico estéril (15 ml en 10 minutos), (esputo inducido), siendo útil además realizar un drenaje postural o fisioterapia respiratoria.
- Rotular el frasco con los datos del paciente.

Conservación y transporte.

- Transportar la muestra rápidamente al laboratorio de microbiología.
- Si el transporte no puede hacerse de forma inmediata (retraso de más de 2 horas) la muestra debe mantenerse refrigerada (¡nunca congelada!).

Criterios de rechazo.

- Muestra no identificada o incorrectamente rotulada (los datos de la muestra no son coincidentes con los del volante de petición).
- Muestra conservada de modo inapropiado o excesivo tiempo en el transporte.
- Contenedor inapropiado, contenedor roto, mal cerrado o con signos de contaminación externa (muestra derramada).
- Muestras duplicadas (excepto para estudio de micobacterias).

JUGO GÁSTRICO

El jugo gástrico es una buena muestra, indicada fundamentalmente en niños o adultos en los que no es posible la obtención de un esputo adecuado.



- La aspiración gástrica se realizará a primera hora de la mañana, cuando todavía no ha comenzado el peristaltismo intestinal que eliminaría rápidamente las micobacterias deglutidas durante la noche.
- Debido a la acidez del jugo gástrico, se requiere un envío y procesamiento rápido (<4 horas). Si no es posible, hay que neutralizarlo (ej., 100 mg de carbonato sódico).

BRONCOASPIRADO

Su obtención es a través de un broncoscopio, por lo que es una muestra más representativa que el esputo del tracto respiratorio inferior.

El área afectada del pulmón puede ser directamente accesible.

En ocasiones los lavados bronquiales están excesivamente diluidos, por lo que son preferibles los cepillados bronquiales.

Los broncoaspirados contienen también flora saprofita de la orofaringe, aunque en menor grado que el esputo, por lo que no son útiles para el cultivo de anaerobios.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Lidocaína (2%) (preferentemente), para anestesia.• Solución salina o lactato de Ringer.• Fibrobroncoscopio.• Contenedor tipo Lukens.• Jeringa de 20 ml.• Lubricante.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• A realizar por un especialista debidamente entrenado.• Rotular con la información del paciente.• Indicar el procedimiento de obtención realizado.

Conservación y transporte.

- Transportar rápidamente al laboratorio de microbiología.
- Estas muestras no deben ser refrigeradas.
- La inhibición de las bacterias por la solución anestésica puede ser un problema, por lo que es muy importante procesar rápidamente estas muestras para cultivo.

Criterios de rechazo.

- Las muestras broncoscópicas tienen la consideración de muestras invasivas y por tanto no pueden ser rechazadas sin consultar previamente con el médico responsable de su obtención a fin de subsanar, en lo posible, el motivo del rechazo. Si esto fuera imposible, la muestra debe procesarse anotando el problema en el informe y avisando de las posibles consecuencias que ello pudiera haber tenido en la interpretación de los resultados.
- Muestra no identificada o incorrectamente rotulada (los datos de la muestra no son coincidentes con los del volante de petición).
- Muestra conservada de modo inapropiado o excesivo tiempo en el transporte.
- Contenedor inapropiado, contenedor roto, mal cerrado o con signos de contaminación externa (muestra derramada).

LAVADO BRONCOALVEOLAR

Igual que el broncoaspirado, se obtiene a través de un broncoscopio.

Consiste en el lavado de un segmento pulmonar, previo anclado del broncoscopio, introduciendo de 20 a 50 ml de suero fisiológico estéril.

Es útil sobre todo en procesos pulmonares intersticiales. Constituye la mejor muestra para detección de *P. jiroveci*.

Los resultados de los cultivos cuantitativos suelen ser más útiles para interpretar los resultados.



Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Lidocaína (2%) (preferentemente), para anestesia.• Solución salina o lactato de Ringer.• Fibrobroncoscopio.• Contenedor tipo Lukens.• Jeringa de 50 ml.• Lubricante.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Mediante broncoscopia, hecha por un especialista debidamente entrenado.• Rotular con la información del paciente.• Indicar el procedimiento de obtención realizado..

Conservación y transporte.

- Transportar rápidamente al laboratorio de microbiología.
- Estas muestras no deben ser refrigeradas.

Criterios de rechazo.

- Las muestras broncoscópicas tienen la consideración de muestras invasivas y por tanto no pueden ser rechazadas sin contactar previamente con el médico responsable de su obtención a fin de subsanar, en lo posible, el motivo del rechazo. Si esto fuera imposible, la muestra debe procesarse anotando el problema en el informe y avisando de las posibles consecuencias que ello pudiera haber tenido en la interpretación de los resultados.
- Muestra no identificada o incorrectamente rotulada (los datos de la muestra no son coincidentes con los del volante de petición).
- Muestra conservada de modo inapropiado o excesivo tiempo en el transporte.
- Contenedor inapropiado, contenedor roto, mal cerrado o con signos de contaminación externa (muestra derramada).



CEPILLADO BRONQUIAL MEDIANTE CATÉTER TELESCOPADO

Consiste en un cepillado de la mucosa bronquial del lóbulo afectado a través de un fibrobroncoscopio, usando un cepillo telescópico protegido por un doble catéter ocluido distalmente.

Permite evitar la contaminación con flora de las vías altas, por lo que la muestra obtenida es útil para el cultivo de anaerobios.

Los resultados de los cultivos cuantitativos suelen ser más útiles para interpretar los resultados.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Lidocaína (2%) (preferentemente), para anestesia.• Solución salina o lactato de Ringer.• Fibrobroncoscopio.• Catéter telescópico.• Tubo con 1 ml de suero salino estéril.• Lubricante.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Mediante broncoscopia hecha por un especialista debidamente entrenado.• Enviar al laboratorio de microbiología el cepillo en un tubo que contenga 1 ml de suero fisiológico estéril.• Rotular con la información del paciente.• Indicar el procedimiento de obtención realizado.

Conservación y transporte.

- Transportar rápidamente al laboratorio de microbiología.
- Estas muestras no deben ser refrigeradas.



Criterios de rechazo.

- Las muestras broncoscópicas tienen la consideración de muestras invasivas y por tanto no pueden ser rechazadas sin consultar previamente con el médico responsable de su obtención a fin de subsanar, en lo posible, el motivo del rechazo. Si esto fuera imposible, la muestra debe procesarse anotando el problema en el informe y avisando de las posibles consecuencias que ello pudiera haber tenido en la interpretación de los resultados.
- Muestra no identificada o incorrectamente rotulada (los datos de la muestra no son coincidentes con los del volante de petición).
- Muestra conservada de modo inapropiado o excesivo tiempo en el transporte.
- Contenedor inapropiado, contenedor roto, mal cerrado o con signos de contaminación externa (muestra derramada).



LÍQUIDOS ORGÁNICOS

LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

El procesamiento del LCR representa un problema particularmente difícil para el laboratorio, ya que los organismos que causan meningitis son diversos (incluyen bacterias, micobacterias, hongos y virus) y lábiles (ej. *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* y *H. influenzae*). Una demora o una mala conservación de la muestra puede condicionar un diagnóstico erróneo.

El líquido cefalorraquídeo (LCR) es la muestra de elección para realizar el diagnóstico etiológico de meningitis infecciosa.

Obtención de la muestra.

La muestra debe recogerse utilizando una técnica estrictamente aséptica. En caso de que sea posible, el paciente debería estar en ayunas.

1. Material necesario.

- Batea
- Guantes estériles
- Desinfectante cutáneo (tintura de yodo al 2 %)
- Paños estériles
- Novocaína (0.5 a 1 %), aguja y jeringa
- Dos agujas de punción lumbar de pequeño calibre (20-22)
- Manómetro de agua
- Tres tubos estériles con tapón de rosca de 10 ml.

2. Técnica

- Asegurarse de que el paciente estará inmóvil durante el procedimiento. Sujetarlo si es necesario.
- Explicarle que es inevitable cierto dolor. La anestesia local alcanza raramente las meninges, y el dolor se produce cuando la aguja llega a la duramadre y tira del tejido conectivo que rodea las vértebras.
- Mantener al paciente con la espalda arqueada de manera que la cabeza casi alcance las rodillas.
- Desinfectar la piel a lo largo de una línea que una las dos



	<p>crestas ilíacas.</p> <ul style="list-style-type: none">• Con jeringa y aguja, introducir bajo la piel una pequeña cantidad de anestésico local, hasta que se haga un pequeño botón subcutáneo. Dejar pasar unos instantes para que el anestésico actúe.• Introducir la aguja de punción lumbar. La inserción será en el espacio entre L3- L4, L4-L5 o L5-S1. Al llegar al espacio subaracnoideo, retirar el estilete interior.• Tan pronto como el líquido empieza a gotear, sabemos que la punta de la aguja se encuentra en el espacio subaracnoideo.• Medir en este momento la presión del LCR.• Recoger el líquido en los tubos estériles con tapón de rosca.
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Conservación y transporte.

- Etiquetar adecuadamente los tubos que contienen la muestra.
- Bajo ningún concepto la muestra debe ser refrigerada. Si no se dispone de estufa a 35-37°C, se mantendrá a temperatura ambiente hasta su envío al laboratorio. Sólo los tubos para cultivo de virus se deben refrigerar a +4 grados.
- La muestra debe ser enviada al laboratorio lo antes posible desde el momento de su obtención. Si el laboratorio está cerrado, la muestra se debe dejar en estufa a 35-37°C (salvo en el caso de que se desee cultivo de virus).

Criterios de rechazo.

- La muestra se rechazará si se recibe en un recipiente no estéril o siempre que conste que se ha manipulado previamente en condiciones inadecuadas.

Observaciones.

- La muestra se recogerá, preferentemente, antes de instaurar cualquier terapéutica antibiótica.
- Se debe recoger una cantidad adecuada del LCR para asegurar la recuperación del organismo infectante. Generalmente, los organismos



se encuentran en concentraciones de 104 a 107 organismos por mililitro de LCR, por lo que resultan adecuados de 1 a 2 ml para cultivo convencional. En caso de sospechar una meningitis por micobacterias o por hongos, se deberá obtener una cantidad mayor de LCR (2 o más ml. en cada caso), ya que la concentración de microorganismos es inferior. En el caso de que se desee procesamiento para diagnóstico de virus, la cantidad será de al menos 1 ml.

- Si se recibe una cantidad de muestra inferior a la necesaria para realizar todas las pruebas solicitadas, el microbiólogo debe contactar con el peticionario para determinar las pruebas que se van a realizar. Si a pesar de la escasa cantidad se siguen pidiendo las mismas pruebas, éstas se deben realizar, pero advirtiendo que el volumen recibido es inadecuado.
- Si la extracción de la muestra se ha realizado en un solo tubo y se solicitan pruebas para distintos laboratorios, será imprescindible remitirlo en primer lugar al laboratorio de Microbiología, para evitar su contaminación. Si hay más de una muestra, Microbiología puede recibir cualquiera de ellas, aunque contenga sangre, ya que ésta no interfiere en el cultivo.
- En el caso de que se sospeche una meningitis bacteriana, es muy importante extraer también hemocultivos.
- Ciertas poblaciones pediátricas llevan derivaciones ventriculares para el drenaje del exceso de LCR. Es importante que estas muestras se etiqueten como “Líquido de derivación ventricular” y no “Líquido Cefalorraquídeo”, ya que aislamientos que podrían considerarse contaminantes si se hubieran obtenido de punción lumbar pueden ser serios patógenos en infecciones de la derivación ventricular.

OTROS LIQUIDOS ORGÁNICOS ESTÉRILES

El resto de los líquidos orgánicos estériles incluyen líquido abdominal (peritoneal, paracentesis, ascitis, diálisis), amniótico, pleural, pericárdico y sinovial.

Estos líquidos orgánicos se cultivan para determinar el agente etiológico cuando existe sospecha de infección en sus correspondientes localizaciones



anatómicas (cavidad abdominal, cavidad pleural, cavidad pericárdica o articulación).

Obtención de la muestra.

La muestra debe recogerse utilizando una técnica estrictamente aséptica. Lo más habitual es que la muestra se deba recoger mediante aspiración percutánea, en cuyo caso se exponen a continuación los materiales necesarios y el procedimiento utilizado.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Batea• Guantes estériles• Desinfectante cutáneo (tintura de yodo al 2 %)• Paños estériles• Novocaína (0.5 a 1 %), aguja y jeringa de 5 ml.• Aguja y jeringa para obtención de la muestra.• Tubo o bote estéril con tapón de rosca. Capacidad según la cantidad que se prevea obtener.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Asegurarse de que el paciente estará inmóvil durante el procedimiento. Sujetarlo si es necesario.• Desinfectar la piel en la zona en la que se va a hacer la punción.• Con jeringa y aguja, introducir bajo la piel una pequeña cantidad de anestésico local, hasta que se haga un pequeño botón subcutáneo. Dejar pasar unos instantes para que el anestésico actúe.• Introducir la aguja de toma de muestra. Aspirar y recoger la cantidad requerida de muestra.• Recoger el líquido en el recipiente estéril o en la misma jeringa.• Líquido pleural: la muestra debe recogerse mediante aspiración percutánea en condiciones de asepsia, colocándola en un tubo limpio y estéril.• Líquido peritoneal: las muestras se recogen mediante aspiración percutánea en condiciones de asepsia, o en el curso de una laparotomía, colocándolas en un tubo limpio y estéril. Es conveniente coger una cantidad superior a 10 ml.



- Líquido de diálisis peritoneal: el líquido de diálisis se drena directamente desde el abdomen del paciente a bolsas, que se deben transportar enteras al laboratorio tan pronto como sea posible.
- Líquido sinovial, pericárdico y otros: la muestra se recoge por aspiración percutánea aséptica y se transporta en un contenedor limpio y estéril.
- Líquido amniótico: el líquido se recoge mediante amniocentesis, en el curso de una cesárea o mediante aspiración con un catéter transcervical intrauterino, y debe transportarse en un contenedor limpio y estéril.
- Conservación y transporte
- Etiquetar adecuadamente el recipiente que contiene la muestra.
- La muestra debe ser enviada al laboratorio lo antes posible desde el momento de su obtención.
- Líquido pleural, peritoneal, diálisis peritoneal, sinovial, amniótico y otros: si va a haber retraso en el transporte o en el procesamiento, la muestra se introducirá en estufa a 35-37°C. Si no se dispone de estufa mantener a temperatura ambiente.
- Líquido pericárdico: si va a haber retraso en el transporte o en el procesamiento, es importante que la muestra se mantenga en frigorífico a +4 °C.

Criterios de rechazo.

La muestra se rechazará si se recibe en un recipiente no estéril o siempre que conste que se ha manejado en condiciones inadecuadas.

Observaciones.

- Las muestras se recogerán siempre antes de instaurar cualquier terapéutica antibiótica. No existe una situación tan urgente que impida tomar la muestra antes de iniciar el tratamiento.
- El volumen mínimo para estudio bacteriano rutinario es de 1 ml, si bien es preferible una cantidad superior. En el caso de que se requiera investigación de *M. tuberculosis* o de hongos, se enviará un volumen superior a los 10 ml.



- En el caso de que sea necesario prevenir la coagulación de alguno de estos líquidos, se usará heparina sin conservantes; otros anticoagulantes pueden resultar antibacterianos.
- Si se usa para el transporte la jeringuilla utilizada en la toma de la muestra, se deberá sustituir la aguja por una estéril tapada con el correspondiente protector.
- Los recipientes adecuados son tubos o botes estériles con tapón de rosca, sin conservantes.
- Los frascos de hemocultivo como sistema de envío de este tipo de muestras deben ser siempre ADICIONALES, y no el único sistema utilizado, ya que en este caso eliminamos la posibilidad de hacer tinciones u otras pruebas, que pueden resultar de gran utilidad para orientar el diagnóstico. Por otra parte, no hay que olvidar que las infecciones polimicrobianas en cavidad pleural o abdominal son frecuentes, por lo que, si usamos frasco de hemocultivo solamente, un organismo puede crecer sobre los demás, enmascarando su presencia.
- Siempre que sea posible se debe evitar el uso de escobillones.
- Las muestras se enviarán inmediatamente al laboratorio, y en caso de que sea imposible o se prevea una demora del procesamiento (muestras tomadas por la tarde, noche o fin de semana), se mantendrán a temperatura ambiente. Se mantendrán en frigorífico cuando se solicite procesamiento para hongos o micobacterias.
- Los frascos de hemocultivo se deberán mantener en estufa a 35-37°C, y si no es posible, a temperatura ambiente.
- Si se recibe una cantidad de muestra inferior a la necesaria para realizar todas las pruebas solicitadas, el microbiólogo debe contactar con el peticionario para determinar las pruebas que se van a realizar. Si a pesar de la escasa cantidad se siguen pidiendo las mismas pruebas, éstas se deben realizar, pero advirtiendo que el volumen recibido es inadecuado.



PIEL Y TEJIDOS BLANDOS

Se basa en la búsqueda de los microorganismos patógenos u oportunistas causantes de infección de piel, partes blandas y abscesos. Dadas las características de estos tejidos, los cultivos polimicrobianos pueden ser de difícil interpretación.

ULCERAS Y HERIDAS SUPERFICIALES

La pérdida de continuidad de la piel determina que su flora microbiana la colonice y posteriormente infecte los tejidos normalmente estériles.

Microorganismos más frecuentes:

- Estafilococos coagulasa negativos
- Enterobacterias
- Microorganismos nosocomiales.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Guantes estériles• Suero fisiológico o solución de Ringer lactato• Jeringa y aguja estériles• Torundas con medio de transporte tipo Stuart-Amies.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Lavar cuidadosamente la superficie de la herida. Recoger el pus mediante jeringa y aguja, aspirando preferentemente de zonas profundas.• Cuando la muestra sea insuficiente, instilar suero o solución de Ringer lactato y aspirarlo nuevamente en la jeringa.• Cuando los procedimientos anteriores no sean factibles, podrá utilizarse una torunda, frotando en las zonas profundas.



3. Número de muestras y volumen mínimo.

- Para muestras líquidas se intentará obtener de 1 a 10 ml. En el resto de las ocasiones la muestra debe ser de suficiente volumen como para poder procesarla en aerobiosis y anaerobiosis. En el caso de remitir torunda, es aconsejable enviar dos escobillones.

Conservación y transporte.

- El transporte de la muestra es determinante en el resultado final. El envío al laboratorio debe de ser inmediato, o antes de las dos horas de su obtención.
- Se remite en la misma jeringa de la extracción pero si no puede enviarse de inmediato se utilizará un vial con medio de transporte anaerobio.
- El remitir la muestra más tardíamente enmascara el verdadero agente causal por la proliferación más rápida de la flora exógena contaminante.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

Observaciones.

- Las muestras recibidas con torunda son de escasa rentabilidad y deben obtenerse solo en circunstancias muy excepcionales, ya que es un método poco deseable por recoger menor volumen de muestra y tener mayor riesgo de contaminación.

ÚLCERAS CRÓNICAS

Introducción

Dado el aumento de la patología geriátrica, las úlceras crónicas son más frecuentes en este tipo de pacientes, aunque pueden darse a cualquier edad, las más frecuentes son las úlceras varicosas, las lesiones por presión y el síndrome del pie diabético.

Microorganismos más frecuentes: Este tipo de úlceras suelen ser profundas, por lo que los microorganismos aislados son muy variables, *Staphylococcus aureus* es el mas frecuentemente aislado, seguido de *Streptococcus* spp, bacilos gramnegativos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y anaerobios sobre todo *Streptococcus* y *Bacteroides* spp.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes estériles • Gasas estériles • Jeringa y aguja estériles • Suero fisiológico o solución de Ringer lactato • Cureta ó bisturí estériles • Jeringa y aguja estériles • Medio de transporte para anaerobios
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none"> • Lavar cuidadosamente la úlcera. • La recogida se hará de la zona más profunda, se prefiere el curetaje o raspado. • Cuando la muestra sea insuficiente, instilar solución de Ringer lactato y aspirarlo mediante la jeringa. • En caso de absceso se hará aspiración mediante jeringa o aguja en la zona central y la interfase entre tejido viable y el absceso. • Cuando los procedimientos anteriores no sean factibles, podrá utilizarse una torunda, frotando en las zonas más profundas. • La biopsia de la úlcera puede ser necesaria cuando se sospecha degeneración maligna y debe incluir todo el espesor de la base. Si se sospecha osteomielitis contigua, la biopsia del hueso debe realizarse.
3. Número de muestras y volumen mínimo.	
	<ul style="list-style-type: none"> • Para muestras líquidas se intentará obtener de 1 a 10 ml. En el resto de las ocasiones la muestra debe ser de suficiente volumen como para poder procesarla en aerobiosis y anaerobiosis. En el caso de remitir torunda, es aconsejable enviar dos escobillones.



Conservación y transporte.

- El transporte de la muestra es determinante para el resultado, el aislamiento del agente causal es inversamente proporcional al tiempo transcurrido entre la obtención y el procesamiento. El envío debe ser inmediato o antes de las dos horas de la obtención(T^a ambiente)
- Se utilizará la misma jeringa de la extracción si se envía antes de las dos horas, si no usar medio de transporte para anaerobios.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

Observaciones.

- La toma se debe de realizar antes de la administración de antibióticos o tras un periodo libre de al menos 48 horas.

EXANTEMAS

Introducción.

La toma de muestras en exantemas y heridas superficiales puede superponerse aunque conviene diferenciar la toma en casos de pústulas, vesículas, petequias y otras lesiones específicas, ya que puede haber ligeras variaciones.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.

- Gasas estériles
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%
- Povidona yodada al 10%
- Jeringa estéril
- Aguja IM
- Medio de transporte para anaerobios.

2. Técnica

- Aspirar directamente con jeringa y aguja el contenido de las lesiones. Cuando no sea suficiente, instilar una pequeña cantidad de suero salino estéril y aspirarlo.

ABSCESOS CERRADOS

Introducción.

Los microorganismos causales pueden llegar al parénquima por extensión directa desde un foco contiguo de infección o por vía hematógena desde un foco distante.

Microorganismos más frecuentes: Varían en función de la localización de los mismos. Así en colecciones de origen abdominal suelen ser polimicrobianos con presencia de flora aerobia y/o anaerobia. En pacientes inmunocomprometidos pueden encontrarse otros agentes de crecimiento predominante intracelular como *Listeria monocytogenes*, *Nocardia asteroides* o *Salmonella* spp.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.

- Gasas estériles
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%
- Povidona yodada al 10%
- Jeringa estéril
- Aguja IM
- Medio de transporte para anaerobios.

2. Técnica

- Desinfectar la piel, limpiando la zona con alcohol, de forma concéntrica comenzando por el centro. Abarcar una zona de unos 10 cm.
- Repetir la operación con povidona. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, en lugar de povidona se utilizará alcohol dos veces consecutivas.
- Dejar secar al menos 1 minuto para que la povidona ejerza su acción antiséptica.



	<ul style="list-style-type: none">• Realizar una punción-aspiración del absceso con jeringa y aguja.• Desinfectar la superficie de goma del tapón del medio de transporte para anaerobios con povidona e inyectar con la misma jeringa, introduciendo una pequeña cantidad de la muestra. Si el medio tiene una coloración azul deberá desecharse. El resto de la muestra se remitirá al laboratorio en la jeringa o bien en un contenedor estéril.
3. Número de muestras y volumen mínimo.	
	<ul style="list-style-type: none">• Deberá enviarse un volumen de muestra entre 1 y 5 ml.
4. Etiquetado	
	<ul style="list-style-type: none">• Deberá etiquetarse correctamente tanto el medio de transporte como la jeringa, en el caso de aspirar de sitios diferentes deberá reflejarse correctamente para su posterior interpretación.

Transporte y conservación.

- Las muestras deberán enviarse al laboratorio lo más pronto posible, antes de dos horas. Hasta que esto suceda, mantener la muestra y el medio de transporte a temperatura ambiente.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

Observaciones.

- Es muy importante especificar en el volante de petición la localización del absceso y el estado inmunitario del paciente con vistas a la búsqueda e interpretación de los resultados. La recogida de la muestra con escobillón es poco deseable, por tener mayor riesgo de contaminación, y ser poco representativo.



FÍSTULAS Y TRACTOS SINUSALES

Introducción.

Los trayectos fistulosos y sinusales suelen estar colonizados por distintos microorganismos que no están implicados en la patogenia del proceso por lo que estas muestras son poco rentables, y los resultados deben evaluarse con precaución.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.	
	<ul style="list-style-type: none">• Gasas estériles• Alcohol etílico o isopropílico al 70%• Povidona yodada al 10%• Jeringa y aguja.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Limpiar cuidadosamente la superficie cutánea con alcohol y luego con povidona. Aspirar el exudado de la parte profunda de la fístula con jeringa y aguja.
3. Número de muestras y volumen mínimo.	
	<ul style="list-style-type: none">• El volumen óptimo para el cultivo es de 1-5 ml.

Conservación y transporte.

- Enviar las muestras al laboratorio antes de dos horas, mantener a temperatura ambiente en este intervalo.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

Observaciones.

- Estos tipos de muestras son inadecuados para la investigación de anaerobios.

MICOSIS CUTÁNEAS

RECOGIDA DE MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE HONGOS

Introducción

El tipo y calidad de la muestra es primordial para el subsiguiente aislamiento e identificación del agente etiológico. La muestra se recogerá antes de instaurar el tratamiento y siempre de la parte activa de la lesión.

Los requisitos son:

- Recogida adecuada y aséptica.
- Transporte rápido al laboratorio (en menos de 2 horas) en recipiente estéril. Otra opción es la recogida de la muestra en el laboratorio de Microbiología. Es importante evitar las contaminaciones.
- Antes de la toma es necesario asegurar que no haya sido aplicado ningún producto antifúngico por vía local o general, al menos en los cuatro días precedentes.
- Se limpiará la piel con alcohol etílico al 70%

Indicaciones: Sospecha de infección fúngica.

Obtención de muestras.

Debido a las características especiales de este tipo de muestra, la toma deberá realizarse en el Laboratorio de Microbiología, con personal cualificado para ello. Se debe remitir al paciente al Laboratorio, solicitando cita previa.

1. Material necesario.

- Recipiente estéril hermético
- Placas de Petri estériles
- Lancetas, bisturí, espátulas, pinzas de depilar, tijeras, cortauñas, tijeras curvas y finas. Todo el material estará preferiblemente estéril.
- Cinta de celofán transparente
- Portaobjetos
- Tubos estériles
- Jeringas y agujas estériles
- Medio de cultivo apropiado.



2. Técnica de la obtención del producto.	
Según la zona afectada y el diagnóstico clínico el tipo de muestra será:	2.1 Escamas 2.2 Pelos 2.3 Fragmentos de uña y tejido periungueal 2.4 Mucosas 2.5 Úlceras 2.6 Biopsias cutáneas
2.1. Escamas.	<ul style="list-style-type: none">• Raspar con ayuda de una lanceta, portaobjetos, bisturí, sobre todo en la periferia de la lesión, por el desarrollo centrífugo del hongo a partir del punto de inoculación. Si la lesión es pequeña se raspa en su totalidad. Las escamas se hacen caer en una placa de Petri.• En el caso de pitiriasis versicolor, se aplica sobre la lesión un fragmento de celofán transparente que se fija sobre un portaobjetos.• En caso de lesiones cutáneas rezumantes se hace la toma con un escobillón estéril humedecido con solución salina fisiológica
2.2. Pelos.	<ul style="list-style-type: none">• Elegir los pelos parasitados. Los cabellos y/o pelos rotos o contorneados deben ser arrancados del folículo piloso.• Recoger el material en una placa de Petri estéril.
2.3. Fragmentos de uña y tejido periungueal.	<ul style="list-style-type: none">• Micosis ungueales• La toma se realiza en la base de la uña / surco periungueal (en onixis por <i>Cándida</i>), o en la extremidad de la misma, (en onicomycosis por dermatofitos).• Hay que coger las escamas por debajo de las uñas introduciendo un bisturí o lanceta 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 y curva fragmentos de la uña afectada. El material obtenido se recoge en una placa de Petri y/o frasco estéril. <p>Perionixis:</p> <ul style="list-style-type: none">• En caso de lesiones supuradas de perionixis, se extrae el pus mediante presión y se recoge con un escobillón estéril.
2.4. Exudados de mucosas.	<ul style="list-style-type: none">• La toma a nivel de mucosas se realiza por raspado con el borde romo del bisturí, portaobjetos o escobillón estéril.
2.5. Exudados de úlceras.	<ul style="list-style-type: none">• En las úlceras de piel y mucosas, la toma se realiza raspando con bisturí los bordes y fondo de la misma, poniendo especial interés en los bordes, para obtener



	<p>escamas dérmicas, así como las costras o porciones vegetantes si las hubiera, ayudándose con las pinzas.</p> <ul style="list-style-type: none">• En todas las lesiones ulcerosas o vegetantes es muy útil la biopsia que debe tratarse como se señala posteriormente.
2.6. Biopsias citáneas.	<ul style="list-style-type: none">• La biopsia es uno de los procedimientos más seguros para el diagnóstico de una micosis. La pieza de biopsia se introduce en un tubo estéril con suero fisiológico estéril o agua glicerinada al 25% estéril.

Conservación y transporte.

- El almacenamiento prolongado puede afectar a la viabilidad del hongo.
- Se transporta en contenedor seco, evitando contenedores con medio de transporte.
- Las muestras dermatológicas se guardaran a 15-30°C.
- Las biopsias se remiten de inmediato al Laboratorio de Microbiología. Si el procesamiento se retrasa más de dos horas refrigerar la muestra a 4°C.

Criterios de rechazo.

- Administración de antifúngicos los días previos a la toma de muestra, ya que pueden dar lugar a cultivos falsamente negativos.
- Toma de muestra mediante escobillón, excepto en perionixis.
- Las muestras recogidas, transportadas o almacenadas incorrectamente, ya que pueden inducir a resultados falsamente negativos o a aislamientos de dudosa significación etiológica.

SEROLOGÍA INFECCIOSA

Introducción.

Los métodos serológicos permiten determinar el estado inmune del paciente y el diagnóstico de infecciones en aquellos casos en que los microorganismos implicados son de cultivo dificultoso o no cultivable, mediante la detección tanto de antígenos como de anticuerpos microbianos específicos.

En general, los anticuerpos de la clase IgM aparecen inicialmente durante la infección, su presencia es transitoria e indican infección reciente permitiendo el diagnóstico con una única muestra de suero. Sin embargo, en determinadas infecciones persisten durante períodos largos por lo que su utilidad debe ser evaluada para cada agente infeccioso.

Los anticuerpos de la clase IgG aparecen más tardíamente, alcanzando niveles máximos en suero a las 4-6 semanas después del inicio de la infección y persistiendo de por vida. El diagnóstico de infecciones basado en la determinación de IgG requiere el procesamiento de dos sueros en paralelo, uno tomado en la fase aguda de la enfermedad, preferiblemente dentro de los 5-7 días del inicio de los síntomas, y una segunda muestra durante la convalecencia, 3-4 semanas más tarde. Un aumento de 4 veces en el título de anticuerpos IgG se considera evidencia de infección reciente.

Obtención de la muestra.

1. Material necesario.

- Guantes estériles
- Gasas estériles
- Tubos de presión negativa estériles
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%
- Sistema de toma de sangre para tubos de presión negativa o sistema tradicional



2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none">• Desinfectar la piel con alcohol• Dejar secar la piel para evitar la producción de hemólisis en la muestra de sangre• Extraer la sangre en un tubo seco con gel separador, sin anticoagulantes ni conservantes.
3. Número de muestras y volumen mínimo.	
	<ul style="list-style-type: none">• Se identificarán las muestras con la etiqueta correspondiente.

Conservación y transporte.

- Dejar los tubos a temperatura ambiente para favorecer la coagulación hasta su transporte.
- Transportar las muestras al laboratorio refrigeradas el mismo día de la extracción. En caso de que se produzca una demora en el envío de muestras al laboratorio, éstas pueden conservarse refrigeradas durante 24-48 horas

Procesamiento en el laboratorio.

- Centrifugar el tubo con la sangre a 1200 rpm durante 10 minutos y mantener a 4^o C.
- Trabajar siempre que sea posible con tubo primario
- Si es posible se guardará una alícuota para seroteca a -70^oC

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

MICROBIOLOGÍA MOLECULAR INFECCIOSA

Introducción.

Los métodos de biología molecular permiten la detección directa del genoma del microorganismo implicado en el proceso infeccioso bien sea DNA o RNA.

Las técnicas de biología molecular están indicadas para la detección de microorganismos que no pueden cultivarse in vitro o para aquellos de lento crecimiento, con importantes requerimientos nutricionales o de difícil cultivo, en cuyo caso los métodos moleculares mejoran la rapidez, sensibilidad y especificidad del diagnóstico etiológico.

Obtención de la muestra.

1. Recomendaciones generales.	
	<ul style="list-style-type: none"> • Es aconsejable obtener y procesar las muestras para biología molecular con las mismas precauciones de esterilidad que para las técnicas de cultivo. • Las muestras de LCR, biopsias, orina, muestras respiratorias se obtendrán siguiendo los procedimientos indicados en las correspondientes secciones del manual de toma de muestras en función del proceso infeccioso implicado, mientras que la obtención de la muestra de sangre difiere según el microorganismo implicado y son mencionadas a continuación. • Indicaciones de las muestras de sangre: • Plasma para carga viral de VIH, VHC, VHB y, estudio de resistencias de VIH • Leucocitos de sangre periférica: PCR de virus y bacterias intracelulares.
2. Técnica	
	<ul style="list-style-type: none"> • Para la obtención de plasma, linfocitos o leucocitos de sangre periférica <ul style="list-style-type: none"> ○ Extraer la sangre en un tubo de 10 ml con EDTA y gel separador. ○ Mezclar invirtiendo el tubo 10-15 veces. La separación



del plasma, linfocitos y leucocitos debe realizarse en el Laboratorio de Microbiología antes de las 6 horas de obtener la muestra para evitar su hemólisis.

Conservación y transporte.

- Las muestras, desde el momento de su obtención hasta la llegada al laboratorio (incluido transporte), deben mantenerse refrigeradas. Una vez recibidas, en caso de no ser procesadas inmediatamente, serán congeladas.

Procesamiento en el laboratorio.

- Centrifugar el tubo con la sangre a 1200 rpm durante 10 minutos. Con ayuda de una pipeta de aspiración estéril transferir el plasma a un tubo estéril de 1.5-2 ml con tapón de rosca. Es conveniente obtener varias alícuotas y congelar si es posible a -70° C. No se aconseja conservar las muestras a -20° C durante tiempos prolongados, máximo 1 año.

Criterios de rechazo.

- Se aplicarán los criterios generales de rechazo de muestras.

BIBLIOGRAFÍA

Cercenado E, Cantón R. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de Microbiología. 2ª ed. Sociedad Española de Microbiología Clínica. 2003.

Fleming D, Hunt O. Biological safety: principles and practices. 3th ed. American Society for Microbiology. Washington D.C. 2000

Instituto de Salud Carlos III. Normas para el transporte de muestras con destino al centro nacional de microbiología. 2002.

Isenberg H. Clinical Microbiology Procedures Handbook. American Society for Microbiology. Washington D.C. 1992.

Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures. Handbook 2th ed. ASM Press. 2004.

Mandell G, Bennett J, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases, 5th ed. Churchill Livingstone, New York. 2000.

Miller JL. A guide to specimen management in clinical microbiology. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1996.

Miller JL. A guide to specimen management in clinical microbiology. 2th ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1998.

Mosca R, Curtas S, Forbes B, Meguid MM. The benefits of Isolator cultures in the management of suspected catheter sepsis. Surgery 1988; 102: 718-23.

Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J H, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (Eds). Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. ASM Press. Washington D.C. 2003.

Murray PR. Pocket guide to clinical microbiology. 2th ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1998.



Murray PR. Pocket guide to clinical microbiology. 3th ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 2004.

Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 2003.

Orden de 4 de diciembre de 2001 por la que se actualizan las instrucciones técnicas para el transporte sin riesgos de mercancías peligrosas por vía aérea. Suplemento del BOE nº 299. de 14 de diciembre de 2001.

Perea J. Enfermedades infecciosas. Ediciones Doyma S.A. Barcelona. 1991.

Piédrola G. Diagnóstico de las infecciones. En Microbiología y Parasitología Médica de Pumarola A, Rodríguez-Torres A, García-Rodríguez JA y Piédrola G. Salvat Eds. Barcelona. 1987:311-319.

Stamey T. The diagnosis, localization and classification of urinary infections p1-51. In TA. Stamey (Ed), Pathogenesis and treatment of urinary tract infections, The Williams and Wilkins Co. Baltimore. 1980.

Summanen P, Baron EJ, Citron EM, Strong C, Wexler HM, Tenover FC. Wadsworth Anaerobic bacteriology manual Star Publishing Co. Belmont. 1993.

Sundquist GK, Eckerbom II, Sjögren VT. Capacity of anaerobic bacteria from neurotic pulps to induce purulent infections. Infection and Immunity .1979.25:685-693.

Symington DA. Improved transport system for Neisseria gonorrhoeae. 1975. Vandepitte J, Engbaek K, Piot P, Heuck CG. Métodos básicos de laboratorio en Bacteriología Clínica. OMS. Ginebra. 1993.

Verges G, Llobet JM, León C. Infecciones respiratorias. Enfermedades infecciosas. Ediciones Doyma S.A. Barcelona. 1988.

Washington JA. Laboratory Procedures in Clinical Microbiology. 2th ed. Springer Verlag. New York. 1985.



Washington JA. Clinical Microbiology. En Infections diseases. Gorbach S.L., Bartlett J.C. Blacklow N.R. (eds) 107-126. W.B. Saunders Co. Philadelphia. 1992.

ANEXO

CATÁLOGO DE MATERIAL DE TOMA DE MUESTRAS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Entre paréntesis se indica el código de petición al almacén general. (Las imágenes pueden variar)

1. Material para obtención y transporte de muestras de orina para urocultivo
 - ❖ Contenedor estéril (Ref 1002907)
 - ❖ Tubo de transporte (Ref 1002903)
 - ❖ Cánula de transferencia para bolsa pediátrica (Ref 1002890)

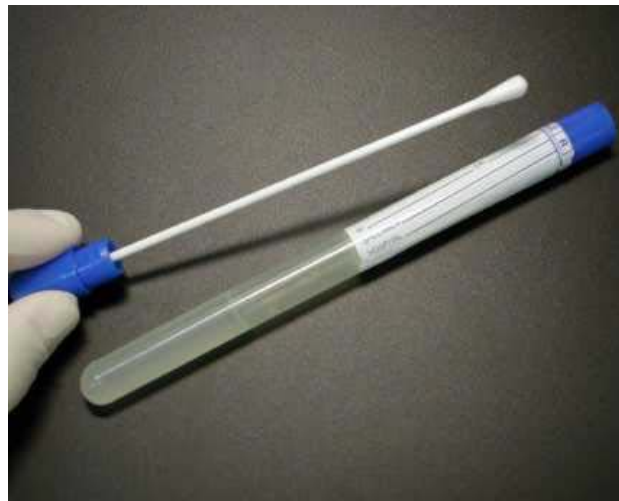


2. Tubo de orina de 10 ml para determinación de Antígenos de Legionella-Neumococo (Ref 1002902)
3. Contenedor estéril para muestras de esputos (Ref 15660)

4. Contenedor con cuchara para muestras de heces para coprocultivo (Ref 15604)



5. Escobillón con medio de transporte Amies (Ref 31313)





6. Frascos de hemocultivo
- ❖ Vial aerobio (Ref 31364)
 - ❖ Vial anaerobio (Ref 31367)

