

*LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA*

*RECOGIDA,*

*TRANSPORTE Y CONSERVACION DE MUESTRAS*

**Servicio de Microbiología**

**Complejo Hospitalario Universitario de Albacete**

**Autores:**

**M<sup>a</sup> Dolores Crespo Sánchez  
Elena Escribano Garaizabal  
Santiago Lorente Ortuño  
Amparo Marín Ors  
Juan José Palomar Pérez  
Purificación Robles Dominguez  
Caridad Sainz de Baranda Camino**

**Año 1998**

# INDICE

- 1.- Introducción y objetivos
- 2.- Normas básicas generales
- 3.- Hemocultivo
- 4.- Urocultivos
  - 4.1. Orina obtenida por micción media
  - 4.2. Orina vesical
  - 4.3. Orina de pacientes con catéter permanente
- 5.- Tracto gastrointestinal
  - 5.1. Heces
  - 5.2. Hisopos rectales
  - 5.3. Muestras digestivas altas
  - 5.4. Otras muestras digestivas bajas
- 6.- Tracto respiratorio
  - 6.1. Tracto respiratorio superior
    - 6.1.1. Faringo-amigdalino
    - 6.1.2. Nasofaringe
    - 6.1.3. Nasal
    - 6.1.4. Senos paranasales
  - 6.2. Tracto respiratorio inferior
    - 6.2.1. Espudo, Espudo inducido
    - 6.2.2. Aspirado traqueobronquial
    - 6.2.3. Punción transtraqueal
    - 6.2.4. Muestras obtenidas a través de fibrobroncoscopia
    - 6.2.5. Muestras obtenidas por abordaje percutáneo
  - 6.3. Muestras extrapulmonares
    - 6.3.1. Líquido pleural
    - 6.3.2. Biopsia pleural
- 7.- Líquido cefalorraquídeo
- 8.- Líquidos orgánicos
- 9.- Tracto genital
  - 9.1. Muestras del tracto genital femenino
    - 9.1.1. Exudados vaginales
    - 9.1.2. Exudados endocervicales
    - 9.1.3. Exudados uretrales
    - 9.1.4. Exudados rectales
    - 9.1.5. Exudados vagino-rectales
    - 9.1.6. Endometrio
    - 9.1.7. Culdocentesis
    - 9.1.8. Trompas y ovarios
    - 9.1.9. Vulva
    - 9.1.10. Lesiones cutáneo mucosas para campo oscuro (chancros)
    - 9.1.11. Ganglios linfáticos inguinales
    - 9.1.12. Líquido amniótico
    - 9.1.13. Productos de la concepción
  - 9.2. Muestras del tracto genital masculino
    - 9.2.1. Exudados uretrales
    - 9.2.2. Exudados rectales

- 9.2.3. Ganglios linfáticos inguinales
- 9.2.4. Lesiones cutáneo mucosas para campo oscuro (chancros)
- 9.2.5. Muestras para estudio de prostatitis

- 10.- Exudados oculares
  - 10.1. Frotis conjuntivales
  - 10.2. Raspados conjuntivales
  - 10.3. Raspados corneales
- 11.- Exudados óticos
  - 11.1. Oído externo
  - 11.2. Oído medio
- 12.- Piel y tejidos blandos
  - 12.1. Ulceras y heridas superficiales
  - 12.2. Exantemas
  - 12.3. Abscesos cerrados
  - 12.4. Fístulas
- 13.- Muestras odontológicas
- 14.- Catéteres y drenajes
  - 14.1. Catéteres intravasculares
  - 14.2. Otros catéteres y drenajes
- 15.- Biopsias
- 16.- Necropsias
- 17.- Médula ósea
- 18.- Investigación de microorganismos especiales
  - 18.1. Anaerobios
  - 18.2. Micobacterias
  - 18.3. Hongos
  - 18.4. Parásitos
- 19.- Otras investigaciones en Suero, LCR y plasma

## **1.- INTRODUCCION Y OBJETIVOS**

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

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

## **2. NORMAS BASICAS GENERALES**

### **2.1. Volante de petición**

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

Todo volante de petición deberá poseer las cinco áreas siguientes:

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

## **2.2. Obtención de la muestra**

**En líneas generales, para cualquier localización es necesario:**

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

## **2.3. Recogida de la muestra**

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

## **2.4. Transporte**

**Todas las muestras deberían enviarse rápidamente al laboratorio para que fueran procesadas antes de las dos primeras horas desde su recogida. Esta situación es vital en el caso de los LCR en meningitis agudas.**

**La mayoría de las bacterias resisten bien las temperaturas bajas, por lo que las muestras pueden mantenerse unas horas en nevera, EXCEPTO: LCR, Exudados, Heces y muestras para cultivo de Anaerobios.**

**En todos los casos los contenedores de las muestras deben estar perfectamente cerrados e identificados con los datos de la muestra, persona a quien pertenece, servicio solicitante y receptor.**

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

### 3. HEMOCULTIVOS

#### A. Material necesario

- Frascos de hemocultivo.
- Compresores de goma.
- Jeringas y agujas de punción IV.
- Gasas estériles.
- Guantes de goma estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Solución Yodada.

#### B. Obtención de la muestra

- Retirar los tapones externos de los frascos.
- Desinfectar los tapones de goma con alcohol etílico al 70%, dejándolo secar al menos un minuto (no utilizar antiséptico yodado).
- Eliminar cualquier gota de desinfectante residual con una gasa estéril antes de la inoculación de la sangre.
- Localizar por palpación la vena que se va a puncionar. Debe utilizarse una vena distinta para cada extracción. Cuando no haya venas accesibles puede realizarse la extracción de sangre arterial.
- Desinfectar con alcohol etílico o isopropílico al 70% una zona de piel de unos 10 cm de diámetro. Se comenzará por el centro y se irán haciendo círculos concéntricos hacia el exterior. Dejar que se seque durante un mínimo de 30 segundos.
- Repetir el paso anterior aplicando una solución yodada, dejándolo secar durante 30 segundos si se trata de tintura de yodo al 1-2% y durante 60 segundos si se utiliza povidona yodada al 10%.
- En pacientes alérgicos al yodo, repetir la operación utilizando alcohol al 70% y dejándolo secar durante 60 segundos.
- Extraer la sangre sin tocar en ningún momento el campo desinfectado. Si fuera necesario palpar nuevamente la vena se utilizarán guantes de goma estériles o se desinfectarán los dedos de la misma manera que la piel del paciente. Si se requiere una segunda venopunción deberá cambiarse la aguja.
- Introducir la sangre en los frascos, primero en el frasco de anaerobios evitando que entre aire en dicho frasco. Mover los frascos para que la sangre y el medio de cultivo se mezclen. Introducir los frascos a 37°C.

#### C. Volumen de la muestra

- Como norma general lo más adecuado es que la sangre mantenga una proporción 1:10 con el medio de cultivo.
- La cantidad de sangre a introducir en cada frasco viene determinada por el

**modelo utilizado en el hospital:**

- **Adultos y niños mayores: obtener de 10-20ml por toma para inocular ambos frasco (frasco para cultivo de aerobios + frasco para cultivo de anaerobios).**
- **En prematuros y niños pequeños: obtener de 0.2 a 5ml de sangre a repartir entre ambos frascos especiales para Pediatría.**

### **C. Numero de muestras y momento de la extracción**

- **En general se recomienda extraer tres hemocultivos por paciente, previos al tratamiento antimicrobiano.**
- **En caso de sepsis y endocarditis subaguda las extracciones se reparten en 24 horas y en caso de que los hemocultivos sean negativos, obtener tres muestras más al día siguiente.**
- **El comienzo de obtención de hemocultivos debe demorarse el menor tiempo posible desde el inicio de la fiebre o de los escalofríos.**
- **El intervalo entre las extracciones en general debe ser de unos 30 minutos, si bien recientemente la American Society for Microbiology ha recomendado la conveniencia de extracciones simultaneas en diferentes puntos anatómicos.**

### **D. Transporte**

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

### **E. Observaciones**

- **No son adecuadas las muestras obtenidas a través de catéter. Estas muestras sólo deberían utilizarse en el caso de sospecha de sepsis asociada a catéter, siempre que en el laboratorio se pudieran hacer cultivos cuantitativos de sangre (ésta técnica aún no está disponible en el Hospital).**
- **Consultar siempre con el Laboratorio de Microbiología ante la sospecha de una bacteriemia por microorganismos “inhabituales” o “de difícil crecimiento”.**
- **En caso de sospecha de determinados microorganismos (*Brucella spp*, *Neisseria gonorrhoeae*,...) o de endocarditis, indicarlo claramente en la petición.**

## 4. UROCULTIVOS

### 4.1. ORINA OBTENIDA POR MICCIÓN MEDIA.

#### A. 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.

#### B. Obtención de la muestra

- La muestra idónea es la primera micción de la mañana, ya que permite la multiplicación de bacterias durante la noche

##### - Técnica para mujeres:

- 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, se repetirá el proceso un total de 4 veces.
- Enjuagar cuidadosamente con agua hervida 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 el resto de la orina en el recipiente.
- 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.

##### - Técnica para hombres:

- Lavado de 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 hervida.
- Se pedirá al paciente que orine desechando los primeros 20-25 mililitros para, sin interrumpir la micción, recoger el resto de la orina en recipiente estéril.

- **Técnica para niños:**

- **En niños y niñas mayores la orina se recogerá 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 de la siguiente forma:**
  - ❑ **Lavado cuidadoso de los genitales y área perineal igual que en los adultos.**
  - ❑ **Colocar la bolsa de plástico o el colector.**
  - ❑ **Vigilar la bolsa cada 30 minutos y tan pronto como el niño haya orinado, deben 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.**

**C. Volumen mínimo de la muestra**

**Recomendaciones sobre el volumen de orina**

<b>Determinación</b>	<b>Volumen (ml)</b>	<b>Comentarios</b>
<b>BACTERIAS</b>	<b>0.5-1</b>	<b>PRIMERA ORINA DE LA MAÑANA</b>
<b>HONGOS</b>	<b>&gt; 20</b>	<b>PRIMERA ORINA DE LA MAÑANA</b>
<b>MICOBACTERIAS</b>	<b>&gt; 20</b>	<b>PRIMERA ORINA DE LA MAÑANA TRES DIAS CONSECUTIVOS</b>
<b>ANAEROBIOS</b>	<b>1</b>	<b>ASPIRADO SUPRAPÚBICO, ENVIAR EN UN SISTEMA DE TRANSPORTE PARA ANAEROBIOS</b>
<b>PARASITOS</b>		<b>ORINA DE 24 HORAS</b>

**D. Transporte y conservación**

- **La orina debe llegar al laboratorio en el plazo de una hora. Cuando esto no sea posible debe refrigerarse a 4°C durante un tiempo máximo de 24 horas. El laboratorio debe controlar el transporte, garantizándose el que las muestras han sido refrigeradas desde el momento de su toma, siendo admisible, si no puede garantizarse el transporte correcto, la utilización de algún conservante (ácido bórico al 2% o el sistema comercial con bórico-formiato).**

#### **D. Observaciones**

- **En pacientes ingresados con imposibilidad de recoger la muestra por sí mismos, se realizará sondaje vesical por personal sanitario experto con las medidas asépticas oportunas.**
- **Para la investigación de anaerobios es necesario que la orina se obtenga por punción suprapúbica.**
- **Para la búsqueda de micobacterias, la orina se recoge de la forma descrita anteriormente durante tres días consecutivos. En este caso el volumen de orina debe ser 100-150ml. y se elegirá preferentemente la primera micción de la mañana. Cuando se sospecha la presencia de hongos el volumen será superior a 20ml. y en el caso de parásitos se recogerá la orina de 24 horas.**

#### **4.2. ORINA VESICAL**

- **Es la orina obtenida por punción suprapúbica o por cistoscopia. La punción suprapúbica 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; se puncionará ésta a 1.5cm. de la sínfisis pubiana, en la línea media, estando el paciente en decúbito supino, con una jeringa de 10ml. y con aguja larga (calibre 19) se aspira el contenido vesical (Fig. 1). En caso de orina obtenida por punción suprapúbica se enviará 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, indicando en volante adjunto, procedencia de la muestra o técnica empleada para su recogida (dato importante a la hora de valorar el recuento de colonias).**

- **Indicaciones:** evidencia clínica del cuadro urinario con recuentos bajos o nulos, neonatos y lactantes, cateterización contraindicada o dificultosa, búsqueda de anaerobios y urocultivos repetidos con dos o más bacterias.

#### **4.3. ORINA DE PACIENTES CON CATETER PERMANENTE**

##### **A. Material necesario**

- **Gasas.**
- **Alcohol 70<sup>a</sup> o solución yodada.**
- **Jeringa o aguja estéril.**
- **Recipiente estéril.**

##### **B. Obtención de la muestra**

- **Se limpiará el catéter con una gasa humedecida en alcohol o solución yodada.**
- **Dejamos secar unos minutos.**
- **Pinchar directamente con la aguja el catéter, por la zona desinfectada, aspirando entre 3-5ml.**

##### **C. Transporte y conservación**

- **Puede enviarse en la jeringa o pasar la orina a un recipiente estéril. Si no puede llevarse al laboratorio inmediatamente, se debe refrigerar a 4°C o utilizar tubos con conservante (ácido bórico al 2%) .**

##### **D. Observaciones**

- **Como regla general se considera que la sonda vesical no es una muestra adecuada y que está justificado rechazar su procesamiento.**

## 5. TRACTO GASTROINTESTINAL

### 5.1. HECES

#### A. Material necesario

- Recipiente de boca ancha para recoger las heces, tipo orinal, bacinilla o cuña. No es necesario que esté estéril, sólo es preciso que esté limpio. No contendrá restos de jabones, detergentes, desinfectantes o iones metálicos.
- Recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético para enviar la muestra. Puede ser válido el empleado para recoger orinas, aunque es preferible utilizar un recipiente que tenga espátula para tomar la muestra de heces.
- Medios o sistemas de transporte para heces. Se emplean sólo si la remisión de la muestra se retrasa. Existen sistemas comerciales para bacterias (Cary-Blair o modificaciones o solución de glicerol tamponado) o para parásitos, SAF (acetato sódico/ácido acético/formalina).
- Espátulas, cucharillas o depresores.

#### B. Obtención de la muestra

- Si son formadas o pastosas se toma una porción del recipiente donde hayan sido emitidas y se transfieren al sistema elegido para el envío al laboratorio. Se seleccionan zonas donde haya sangre, moco o pus.
- No son válidas las muestras contaminadas con orina. No debe utilizarse para la recogida papel higiénico, porque suelen tener sales de bario que inhiben algunas bacterias enteropatógenas.

#### C. Volumen mínimo

- Heces formadas o pastosas: al menos 1 ó 2g; para virología añadir de 2 a 4g. más. Muestras del tamaño de una nuez son muy adecuadas pues permiten realizar la mayoría de las investigaciones posibles.
- Heces líquidas: entre 5 y 10ml.

#### D. Transporte y conservación

- Para el estudio bacteriológico es suficiente enviar la muestra en un recipiente estéril si se va a procesar en el plazo de 1 ó 2 horas después de su emisión. En caso contrario se remite en un sistema de transporte para bacterias. En ambos casos se mantiene en refrigeración hasta el procesamiento, para evitar el sobrecrecimiento de la flora normal que puede enmascarar o destruir a los enteropatógenos. El frío puede afectar la viabilidad de *Shigella spp.* Para el estudio de toxinas de *C. difficile*, la

muestra se puede mantener hasta 48 horas en refrigeración; congelada a – 20°C se puede mantener indefinidamente. Este tipo de muestras, preferiblemente sin medio de transporte, es indispensable para: el examen en fresco, el ensayo de las toxinas de *C. difficile*, detección por concentración de huevos o parásitos y estudios virológicos.

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

#### **E. Observaciones**

- Las muestras para coprocultivo, deberán tomarse antes de la administración de antimicrobianos o agentes antidiarreicos. Es conveniente también evitar, sobre todo para estudios parasitológicos la utilización previa de antiácidos y laxantes oleoso, así como de los compuestos habitualmente utilizados para estudios radiológicos digestivos (bario, bismuto).
- Indicar siempre el juicio diagnóstico de presunción y si el paciente es menor de un año.
- Solicitar las investigaciones especiales explícitamente (*C. difficile*, *C. perfringens*, etc.).
- Si con la primera muestra no se detecta la presencia de enteropatógenos, es necesario enviar en los días siguientes, dos tomas adicionales. En general, para los estudios parasitológicos, se deben enviar tres muestras tomadas en diferentes días.

#### **F. Muestras inadecuadas**

- Heces emitidas anteriores a dos horas y que no hayan sido refrigeradas.
- Las tres tomas realizadas el mismo día.

### **5.2. HISOPOS RECTALES**

#### **A. Material necesario**

- Hisopos rectales con medio de transporte y sin medio de transporte.
- Guantes.

## **B. Obtención de la muestra**

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 *Neisseria gonorrhoeae*, *Campylobacter spp.*, *Shigella spp.*, *C. difficile*, especialmente en el hospital y en portadores anales de *Streptococcus pyogenes*, Enterococos Resistentes a la Vancomicina, Enterobacterias productoras de Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) y *Acinetobacter* multirresistentes. 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.

## **C. Transporte y conservación**

- Muestras con medio de transporte (Stuart, Cary-Blair, para anaerobios en el caso cultivo de *C. difficile*): < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.
- Muestras sin medio de transporte: envío inmediato al laboratorio.

## **D. Observaciones**

Son válidas las referentes a las heces.

## **E. Muestras inadecuadas**

- Hisopos rectales secos.
- Hisopos con heces cuando se busquen bacterias distintas a enteropatógenos.

### **5.3. MUESTRAS DIGESTIVAS ALTAS**

#### **5.3.1. ASPIRADOS**

- Lavado gástrico, aspirado duodenal.

## **A. Material necesario**

- Tubo de lavado gástrico.
- Recipientes estériles de boca ancha, tubo de tapón de rosca, tubo de vacío.
- Medio de transporte para parásitos.

## **B. Obtención de la muestra**

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

## **C. Volumen mínimo**

- De 0.5 a 3ml en el aspirado duodenal.

## **D. Transporte y conservación**

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

### **5.3.2. BIOPSIA Y MUESTRAS OBTENIDAS POR ENDOSCOPIAS**

#### **A. Indicaciones**

- Biopsia esofágica: candidiasis e infecciones por *CMV* y *HSV* (actualmente no se realizan cultivos de Virus).
- Biopsia gástrica y duodenal: *Helicobacter pylori*.
- Biopsia de intestino delgado: *G. intestinalis*, *Cryptosporidium*, *Microsporidium*.

#### **B. Material necesario**

- Endoscopio y material complementario.
- Tubos estériles de tapón de rosca.
- Tubos de transporte con medio para parásitos.
- Tubos de transporte con medio para virus (cuando haya cultivo virológico).
- Tubos con solución salina para muestras pequeñas.

### **C. Obtención de la muestra**

- Introducir por la cavidad oral el endoscopio y recoger la biopsia mediante pinzas, cepillado reiterado o lavado (25-30ml de solución salina), con posterior aspiración del material.
- En sospecha de infección por *H. pylori* es fundamental obtener varias muestras tanto de la base como de los cuatro cuadrantes del margen de la úlcera, sin olvidar la biopsia de la mucosa antral.

## **5.4. OTRAS MUESTRAS DIGESTIVAS BAJAS**

En este apartado se incluyen la biopsia rectal empleada para la detección de *Entamoeba histolytica*, el HVS y *Balantidium coli*, y las muestras tomadas por sigmoidoscopia para la detección de *E. histolytica*, micobacterias y colitis pseudomembranosa por *C. difficile* y *S. aureus*, *Schistosoma* y *Cryptosporidium*.

### **A. Material necesario**

- Sigmoidoscopio, rectoscopio y material complementario.
- Pipetas.
- Tubos de tapón de rosca estériles con o sin solución salina.
- Tubo de transporte para anaerobios.

### **B. Obtención de la muestra**

- Biopsia rectal: emplear pinzas para tomar muestras de las lesiones o de la mucosa rectal posterior a unos 7-10 cm del esfínter anal.
- Sigmoidoscopia: toma con pinzas o con pipeta: para la búsqueda de parásitos se realizan después de la defecación normal o 2-3 horas después de una defecación conseguida con laxantes.

### **C. Transporte y conservación**

- En tubo de tapón de rosca. Si la muestra es pequeña o se va a dilatar el envío se emplearán tubos con solución salina para evitar la desecación.
- El envío debe ser inmediato y la conservación adecuada; si se sospecha *C. difficile* emplear medio para transporte de anaerobios. Para la búsqueda de parásitos se envía inmediatamente al laboratorio o en su defecto las muestras tomadas con pipeta se incluirán en fijador.

## **6. TRACTO RESPIRATORIO**

### **6.1. TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR**

#### **6.1.1. Faringo-amigdalino**

#### **6.1.2. Nasofaringe**

##### **6.1.2.1. Escobillonaje nasofaríngeo**

##### **6.1.2.2. Aspirado nasofaríngeo**

#### **6.1.3. Nasal**

#### **6.1.4. Senos paranasales**

### **6.2. TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR**

#### **6.2.1. Esputo, Esputo inducido**

#### **6.2.2. Aspirado traqueobronquial**

#### **6.2.3. Punción transtraqueal**

#### **6.2.4. Muestras obtenidas a través de fibrobroncoscopia**

#### **6.2.5. Muestras obtenidas por abordaje percutáneo**

### **6.3. MUESTRAS EXTRAPULMONARES**

#### **6.3.1. Líquido pleural**

#### **6.3.2. Biopsia pleural**

#### **6.3.3. Hemocultivo**

### **6.1. TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR**

#### **6.1.1. FARINGO-AMIGDALINO**

- Se investigará rutinariamente la presencia de *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo A (*S. pyogenes*).
- Esta muestra también podrá utilizarse para la detección de *Neisseria gonorrhoeae*, *A. haemolyticum*, *C. diphtheriae* y *H. influenzae* (Epiglotitis).

#### **A. Material necesario**

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

#### **B. Obtención de la muestra**

- Bajo visión directa, con la ayuda de un depresor lingual, se tocará con una torunda en todas las partes con exudado, membranas o inflamación. Se

deben frotar las criptas tonsilares y la faringe posterior. No tocar nunca la mucosa oral, lengua o úvula.

### C. Numero de muestras

- **Cultivo:** es suficiente con una torunda de Dacron.
- **Detección de Antígeno:** una torunda sin medio de transporte.
- **Cultivo + Detección de Antígeno:** dos torundas una de ellas sin medio de transporte.

### D. Transporte y conservación

- **Muestras sin medio de transporte:** <2 horas a temperatura ambiente.
- **Muestras con medio de transporte:** < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

### E. Observaciones

- En las sospechas de difteria deberán mandarse porciones de membrana, una torunda faríngea, y una torunda nasofaríngea por vía pernasal.
- Este tipo de toma está contraindicada en pacientes con epiglotis inflamada.

## 6.1.2. NASOFARINGE

### 6.1.2.1. ESCOBILLONAJE NASOFARINGEO

Es la muestra indicada para la investigación de portadores de *Neisseria meningitidis* y aislamiento de *Bordetella pertussis*.

#### A. Material necesario

- Torundas flexibles de alginato cálcico o de Calgiswab (para *B. pertussis*) con y sin medio de transporte de Stuart-Amies.

#### B. Obtención de la muestra

- 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 durante 5 segundos y extraerla.

**C. Número de muestras y/o volumen**

- Es suficiente una torunda.

**D. Transporte y conservación**

- Muestras sin medio de transporte: <2 horas a temperatura ambiente.
- Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

**E. Observaciones**

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

**6.1.2.2. ASPIRADO NASOFARINGEO**

Es la muestra indicada para la investigación de *Neisseria meningitidis*, *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Streptococcus pyogenes* y *Virus Respiratorio Sincitial*.

**A. Material necesario**

- Tubo aspirador de Teflón o jeringa y catéter.
- Contenedor estéril de cierre hermético.

**B. Obtención de la muestra**

- Aspirar el moco, pasando el tubo de teflón o un catéter conectado a una jeringa por vía pernasal, de igual forma que la torunda.

**C. Número de muestras y/o volumen**

- Volumen entre 0.5-1ml.

**D. Transporte y conservación**

- Envío en < 15 minutos a temperatura ambiente.

## **E. Observaciones**

- Ante la sospecha de *C. diphtheriae*, *A. haemolyticum* y *B. pertussis*, contactar antes de la toma de la muestra con el laboratorio de Microbiología.

### **6.1.3. NASAL**

Es la muestra indicada para la investigación de portadores de *Staphylococcus aureus*.

#### **A. Material necesario**

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

#### **B. Obtención de la muestra**

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

#### **C. Número de muestras**

- Es suficiente una torunda.

#### **D. Transporte y conservación**

- Muestras sin medio de transporte: <2 horas a temperatura ambiente.
- Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

## **E. Observaciones**

- Los microorganismos encontrados en fosa nasal no tienen por que 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 etiológico de las sinusitis y no pueden sustituir nunca a la punción del seno.

#### **6.1.4. SENOS PARANASALES**

Se realiza punción-aspiración de los mismos, lo que requiere un especialista en O.R.L. o personal especializado en dicha técnica.

##### **A. Material necesario**

- Povidona yodada al 10%.
- Contenedor estéril de cierre hermético.
- Medio de transporte para anaerobios.
- Solución salina estéril.
- Material quirúrgico de O.R.L.

##### **B. Obtención de la muestra**

- Desinfectar el lugar de la punción con povidona yodada al 10%.
- 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 1ml de suero salino estéril y aspirarlo nuevamente.
- Inyectar una parte de la muestra en un medio de transporte para anaerobios y el resto introducirlo en un contenedor estéril o dejarlo en la propia jeringa.

##### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Se intentará obtener al menos 1ml de muestra.

##### **D. Transporte y conservación**

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

#### **6.1.5. CAVIDAD ORAL**

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

##### **A. Material necesario**

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

## **B. Obtención de la muestra**

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

## **C. Número de muestras y/o volumen**

- Es suficiente una torunda.

## **D. Transporte y conservación**

- Muestras sin medio de transporte: < 2 horas a temperatura ambiente.
- Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

## **6.2. TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR**

### **6.2.1. ESPUTO, ESPUTO INDUCIDO**

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

## **A. Material necesario**

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

## **B. Obtención de la muestra**

- El paciente previamente se enjuagará la boca o hará gárgaras con agua.
- Obtener el esputo tras una expectoración profunda, preferentemente matinal.

- De no producirse expectoración espontánea, puede inducirse la misma con nebulizaciones de suero fisiológico estéril (25ml de solución salina estéril al 3-10%), siendo útil además realizar un drenaje postural o fisioterapia respiratoria.

**C. Número de muestras y/o volumen**

- Es suficiente una muestra.
- Volumen > 1ml.

**D. Transporte y conservación**

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

**E. Observaciones**

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

**6.2.2. ASPIRADO TRAQUEOBRONQUIAL**

De valor análogo al del esputo por su contaminación con flora orofaríngea.

**A. Material necesario**

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

**B. Obtención de la muestra**

- No emplear anestésicos en su obtención por el poder bactericida de los mismos.

**C. Número de muestras y/o volumen**

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

#### **D. Transporte y conservación**

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

#### **E. Observaciones**

- Los resultados obtenidos con esta muestra en paciente traqueostomizados deben interpretarse con cautela, debido a la colonización que se produce en las 24 horas siguientes a la traqueotomía.

### **6.2.3. PUNCIÓN TRANSTRAQUEAL**

#### **A. Material necesario**

- Guantes, paños y gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Alcohol yodado al 1-2% o un yodóforo al 10% como Povidona yodada.
- Solución salina.
- Jeringas estériles.
- Aguja y catéter nº 14-16 (de subclavia).
- Anestésico local (lidocaína al 1-2% con adrenalina).
- Contenedor estéril de cierre hermético.
- Medio de transporte para anaerobios.

#### **B. Obtención de la muestra**

- Desinfección de la piel con alcohol yodado o Povidona yodada.
- Introducción del catéter por punción a través de la membrana cricotiroidea.
- Inyectar solución salina y aspirar.

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

- La máxima cantidad de aspirado posible.

#### **D. Transporte y conservación**

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

- Las muestras para cultivo de hongos o Micobacterias es mejor conservarlos a 4°C <24 horas.

#### **E. Observaciones**

- Útil en el diagnóstico de anaerobios.
- Útil en enfermos graves que no expectoran o lo hacen con esputos de calidad insuficiente.
- Indicado ante neumonías que responden mal al tratamiento empírico y neumonía nosocomial.
- No aconsejable en enfermedad obstructiva crónica ni en enfermos hospitalizados durante largo tiempo, ya que pueden encontrarse muy colonizados. Contraindicado en hipoxia severa y trastornos de coagulación. Posibles complicaciones como enfisema subcutáneo o hemoptisis.

#### **6.2.4. MUESTRAS OBTENIDAS A TRAVÉS DE FRIBROBRONCOSCOPIA**

En términos generales las muestras obtenidas por fribrobroncoscopia, salvo el cepillado bronquial por catéter telescópado, son muestras contaminadas en mayor o menor grado con flora orofaríngea y por lo tanto no válidas para cultivo de anaerobios.

#### **A. Material necesario**

- Material específico para broncoscopia.
- Contenedor estéril de cierre hermético.
- Tubo estéril con 1ml de solución Ringer o suero fisiológico estéril.
- Material de corte estéril.

#### **B. Obtención de la muestra**

- **BROCOASPIRADO (BAS)**

Recogida de secreciones respiratorias a través de fribrobroncoscopio, pudiendo introducirse de 3 a 5ml de suero fisiológico previo a la aspiración.

- **CEPILLADO BRONQUIAL POR CATÉTER TELESCOPADO (CBCT)**

Cepillado de la mucosa bronquial del lóbulo afectado a través de un fribrobroncoscopio mediante un cepillo telescópado protegido por un

**doble catéter ocluido distalmente para evitar la contaminación de vías altas.**

- **LAVADO BRONCOALVEOLAR (BAL)**

**Lavado de un segmento pulmonar (lóbulo medio o llingula) previo anclado del broncoscopio, introduciendo de 20 a 50ml de suero fisiológico.**

**Indicado especialmente en procesos pulmonares intersticiales.**

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

- **BIOPSIA TRANSBRONQUIAL (BTB)**

**Obtención de tejido pulmonar mediante técnica broncoscópica.**

**Posible contaminación de la pinza de biopsia.**

**Complicaciones: neumotórax, hemorragia.**

### **C. Número de muestras y/o volumen**

- **BAS Y BAL: > 1ml.**
- **CBCT: remitido en 1ml de solución Ringer o suero fisiológico.**
- **BTB: la máxima cantidad posible.**

### **D. Transporte y conservación**

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

### **E. Observaciones**

- **Las muestras obtenidas por Broncoaspirado (BAS) o Lavado broncoalveolar (BAL) deben ser siempre recogidas previo Cepillado bronquial (CBC) y/o Biopsia bronquial para evitar el exceso de sangre en la dichas muestra.**
- **Es aconsejable recoger tres esputos en días consecutivos tras la broncoscopia.**

## **6.2.5. MUESTRAS OBTENIDAS POR ABORDAJE PERCUTANEO**

**Dentro de las técnicas invasivas son las que permiten la obtención de muestras más representativas del parénquima pulmonar, no obstante, sólo deben**

emplearse cuando fracasen otros métodos menos invasivos o cuando la situación del enfermo haga imprescindible conocer el diagnóstico etiológico.

#### **A. Material necesario**

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

#### **B. Obtención de la muestra**

- **PUNCION PULMONAR ASPIRATIVA TRANSTORACICA (PPA)**

**Obtención del exudado de las lesiones pulmonares a través de una punción transtorácica con aguja ultrafina con control radioscópico o ecográfico.**

**Debe aplicarse ante infiltraciones densas (no intersticiales) y sobre todo si son periféricas.**

**Contraindicado en pacientes con bullas, trastornos de coagulación y sospecha de hidatidosis. Posibles complicaciones, como neumotórax y hemoptisis.**

**Es una muestra ideal para estudio de infección anaerobia grave en niños, especialmente en edades tempranas.**

- **PUNCION BIOPSICA PULMONAR**

**Biopsia transtorácica con trocar.**

**Sólo en casos excepcionales y en caso de lesiones muy periféricas debido al alto riesgo de neumotórax.**

- **OTRAS (BIOPSIA PULMONAR CON TORACOSCOPIO Y BIOPSIA PULMONAR POR TORACOTOMIA)**

**Permiten la selección visual.**

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

- **Muestras por aspirado: la mayor cantidad que sea posible.**
- **Pieza de biopsia: una cuña de 3ml., cuando sea posible.**

#### **D. Transporte y conservación**

- **Muestras sin medio de transporte: < 15 minutos a temperatura ambiente.**

- Muestras con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.
- Las muestras para cultivo de hongos o Micobacterias es mejor conservarlos a 4°C <24 horas.

### 6.3. MUESTRAS EXTRAPULMONARES

#### 6.3.1. LIQUIDO PLEURAL

##### A. Material necesario

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

##### B. Obtención de la muestra

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

##### C. Número de muestras y/o volumen

- Para estudio bacteriano rutinario es suficiente de 1 a 10 ml en un contenedor estéril de cierre hermético o medio de transporte.
- Cuando se requiera la investigación de *Mycobacterium spp* y hongos se enviará un volumen superior a 10ml en un contenedor estéril de boca ancha (ver apartado correspondiente).

- Para cultivo en frasco de hemocultivo, con respecto al volumen de muestra seguir las indicaciones señaladas en el apartado correspondiente. Se inocularán un frasco para cultivo de aerobios y/o un frasco para cultivo de anaerobios en función del estudio que se pretenda.

#### **D. Transporte y conservación**

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

#### **E. Observaciones**

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

#### **6.3.2. BIOPSIA PLEURAL**

Ver apartado dedicado a Biopsias.

#### **6.3.3. HEMOCULTIVO**

Según técnica señalada en su apartado correspondiente.

## INDICACIONES Y VALORACION DE LAS MUESTRAS RESPIRATORIAS

MUESTRAS	INDICACIONES										VALORACION
	G	C	L	MY	N	A	MT	H	V	PC	
ESPUTO	*	*	*	*	*		*	*			ACEPTABLE
ASPIRADO TRAQUEOBRONQUIAL	*	*	*	*	*		*	*			ACEPTABLE
PUNCION TRANSTRAQUEAL	*	*	*	*	*	*	*	*			MUY BUENA
BRONCOASPIRADO	*	*	*	*	*		*	*			BUENA
LAVADO BRONCOALVEOLAR	*	*	*	*	*		*	*			BUENA
LAVADO BRONCOALVEOLAR PROTEGIDO	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	MUY BUENA
BIOPSIA TRANSBRONQUIAL	*	*	*	*	*		*	*	*	*	MUY BUENA
PUNCION PULMONAR TRANSBRONQUIAL	*	*	*	*	*		*	*	*	*	MUY BUENA
PUNCION PULMONAR ASPIRATIVA	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	MUY BUENA
BIOPSIA PULMONAR NECROPSIAS	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	EXCELENTE
LIQUIDO PLEURAL	*	*	*	*	*	*	*	*			EXCELENTE
SANGRE		*					*	*			EXCELENTE

**G: Gram**

**MY: Mycoplasma**

**MT: Micobacterias**

**PC: Pneumocystis carinii**

**C: Cultivo aerobio**

**N: Nocardia**

**H: Hongos**

**L: Legionella**

**A: Anaerobios**

**V: Virus**

## 7. LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

Se obtendrá antes de instaurar cualquier terapéutica antibiótica.

### A. Material necesario

- Paños, guantes y gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada.
- Anestésico local.
- Jeringuillas de 5-10ml.
- Agujas de punción IM.
- Trócares de punción lumbar de varios tamaños.
- Tubos limpios y estériles con tapón de goma o rosca.
- Sistemas de presión de LCR de un solo uso.

### B. Obtención de la muestra

- LCR obtenido por punción lumbar.
  - Se localiza la zona elegida para la punción lumbar mediante palpación de los espacios intervertebrales una vez colocado el paciente en la posición adecuada.
  - Se desinfecta con alcohol al 70% una zona de 10 cm de diámetro en el área elegida. La aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia. Se repite la operación con povidona yodada que se deja secar durante un minuto.
  - Realizar la punción entre los espacios intervertebrales L3-L4, L4-L5 o L5-S1, siguiendo las normas de la más estricta asepsia.
  - Al llegar al espacio subaracnoideo retirar el estilete y dejar salir libremente el líquido cefalorraquideo que se recogerá en tres tubos sin conservantes y estériles.
- Generalmente el primer tubo es para bioquímica, el segundo para el estudio microbiológico y el tercero para investigación de células (este suele ser el más transparente aunque la punción haya sido traumática). No obstante, el tubo más turbio se enviará a Microbiología.
- LCR obtenido de reservorio:
  - Hacer la toma del lugar de colección del reservorio, previa desinfección.

### C. Número de muestras y/o Volumen

- Estudio bacteriológico: > 1ml.

- Cultivo de hongos: 2 a 10ml.
- Cultivo de Mycobacterias: 2 a 10ml.
- Estudio de Virus: > 1ml.

#### D. Transporte y Conservación

- Para estudio bacteriológico debe enviarse en < 15 minutos al laboratorio ( *Streptococcus pneumoniae* puede lisarse en 1 hora); si no es posible se mantendrá en estufa a 35-37°C y una parte se inoculará en un frasco de hemocultivo de aerobios que deberá mantenerse también en estufa hasta su envío a Microbiología. Si no se dispone de estufa se mantendrá a temperatura ambiente. **NUNCA REFRIGERAR** pues puede afectar la viabilidad de *N. meningitidis* y *H. influenzae*.
- En el LCR no se estudian rutinariamente los anaerobios. En caso de solicitar dicho estudio y cuando el transporte a Microbiología no sea en <15 minutos, se utilizará un medio de transporte de líquidos para estudio de anaerobios y se inoculará una parte en un frasco de hemocultivos de anaerobios.
- Las muestras para estudio de virus se deben enviar en hielo; si dicho envío se retrasa >24 horas, se deberán congelar a -70°C.

#### E. Observaciones

Como la meningitis suele surgir por un proceso bacteriémico, se solicitarán simultáneamente hemocultivos, pudiendo ser así mismo estudiadas las posibles lesiones metastásicas cutáneas.

Es necesario que en la petición se señale claramente las investigaciones solicitadas (bacterias habituales, micobacterias, anaerobios, hongos).

## 8. LIQUIDOS ORGANICOS

En este apartado trataremos de los líquidos orgánicos, habitualmente estériles, salvo el LCR, como: peritoneal, líquido de diálisis peritoneal, articular y pericárdico, médula ósea, líquido ascítico,...

### A. Material necesario

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

### B. Obtención de la muestra

Varía dependiendo del líquido corporal del que se trate.

- Deberá seguirse una técnica rigurosamente estéril.
- Desinfectar la piel con alcohol etílico al 70%, haciendo círculos concéntricos desde el centro hacia la periferia en una zona de unos 10 cm de diámetro.
- Repetir el paso anterior con povidona yodada, dejando secar durante un minuto. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, realizar la desinfección con alcohol dos veces consecutivas.
- La toma se hace por punción percutánea (paracentesis, punción pericárdica o punción articular) de forma aséptica para evitar la contaminación por la flora cutánea o ambiental. La punción pericárdica se realiza con control electrocardiográfico.
- Una vez realizada la toma percutánea se retira la povidona yodada de la piel con un apósito impregnado en etanol al 70%.
- Más raramente se pueden realizar tomas de estas localizaciones en el transcurso de intervenciones quirúrgicas. En esta circunstancia debe desaconsejarse el uso de hisopos (escobillones), siendo preferible también la aspiración; solo se utilizarán hisopos (escobillones) cuando el contenido no pueda ser aspirado.
- Para inoculación de frascos de hemocultivos, seguir las indicaciones del apartado correspondiente (Apartado nº 3: Hemocultivos). Este es un sistema adicional a los anteriores. Está particularmente indicado cuando el envío se puede retrasar o en los líquidos que pueden coagularse. Su uso ha

aumentado la rentabilidad del cultivo de líquidos ascíticos y de diálisis peritoneal.

### **C. Número de muestras y/o volumen**

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

### **D. Transporte y conservación**

- Muestras recogidas en un contenedor sin medio de transporte se remitirán a temperatura ambiente en < 15 minutos. Los recipientes idóneos son tubos estériles de tapón de rosca o de presión negativa sin conservantes. Se llenarán hasta cerca del tapón. De esta forma pueden ser útiles para el estudio de anaerobios, especialmente si la muestra es purulenta.
- Muestras recogidas en un contenedor con medio de transporte para anaerobios: a temperatura ambiente <24 horas. Estos viales o tubos prerreducidos deben utilizarse especialmente en las muestras en que habitualmente se encuentran bacterias anaerobias.
- Los líquidos para cultivo de hongos o Micobacterias es mejor conservarlos a 4°C <24 horas.
- El líquido pericárdico es mejor conservarlo a 4°C < 24 horas.
- Si se utiliza la misma jeringuilla de extracción para transportar la muestra es imprescindible sustituir la aguja por otra estéril tapada con su correspondiente protector.
- El frasco de hemocultivo se recomienda como transporte de líquidos articulares. Para su conservación y transporte ver apartado correspondiente.

### **E. Observaciones**

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

- **Si es necesario evitar la coagulación de alguno de estos líquidos se usará heparina sin conservantes (otros anticoagulantes pueden tener acción bactericida).**

## **9. TRACTO GENITAL**

### **9.1. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO**

- 9.1.1. Exudados vaginales**
- 9.1.2. Exudados endocervicales**
- 9.1.3. Exudados uretrales**
- 9.1.4. Exudados rectales**
- 9.1.5. Exudados vagino-rectales**
- 9.1.6. Endometrio**
- 9.1.7. Culdocentesis**
- 9.1.8. Trompas y ovarios**
- 9.1.9. Vulva**
- 9.1.10. Lesiones cutáneo-mucosas para campo oscuro (chancros)**
- 9.1.11. Ganglios linfáticos inguinales**
- 9.1.12. Líquido amniótico**
- 9.1.13. Productos de la concepción**

### **9.2. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO**

- 9.2.1. Exudados uretrales**
- 9.2.2. Exudados rectales**
- 9.2.3. Ganglios linfáticos inguinales**
- 9.2.4. Lesiones cutáneo-mucosas para campo oscuro (chancros)**
- 9.2.5. Muestras para estudio de prostatitis.**

### **9.3. MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE CHLAMYDIA Y MYCOPLASMA**

- 9.3.1. Muestras para el estudio de *Chlamydia trachomatis*.**
- 9.3.2. Muestras para el estudio de *Mycoplasma sp.***

### **9.1. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO**

#### **9.1.1. EXUDADOS VAGINALES**

##### **A. Material necesario**

- **Camilla ginecológica.**
- **Espéculo estéril.**
- **Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte tipo Stuart-Amies o sin medio de transporte.**

## **B. Obtención de la muestra**

- Con la paciente en posición ginecológica se introducirá un espéculo “sin lubricante” (si es necesario lubricar utilizar agua templada).
- Recoger la muestra, bajo visión directa, con una torunda, de la zona con mayor exudado o, en su defecto, del fondo del saco vaginal posterior (Fig. n° 2).
- Repetir la operación con una segunda torunda.

## **C. Número de muestras y/o volumen**

- Se obtendrán dos torundas, una destinada al estudio microscópico y otra para cultivo.

## **D. Transporte y conservación**

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

## **E. Observaciones**

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

## 9.1.2 EXUDADOS ENDOCERVICALES

### A. Material necesario

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torundas secas sin medio de transporte (para limpieza de endocérvix).
- Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte tipo Stuart-Amies o sin medio de transporte.
- Para detección de *Chlamydia trachomatis* ver apartado específico (9.3.1).

### B. Obtención de la muestra

- Con la paciente en posición ginecológica se introducirá un espéculo “sin lubricante” (si es necesario lubricar utilizar agua templada).
- Se limpiará el endocérvix de secreciones vaginales, con una torunda seca.
- Bajo visión directa se comprimirá cuidadosamente el cérvix con las palas del espéculo y se introducirá una torunda en el canal endocervical con un suave movimiento de rotación (Fig. nº 3).
- Repetir la operación con una segunda torunda.
- Para investigación de *Mycoplasma* se recogerá una tercera torunda con medio de transporte de Stuart-Amies.

### C. Número de muestras y/o volumen

- Se obtendrán tres torundas, una para examen microscópico y las otras dos para cultivo.

### D. Transporte y conservación

- Torundas sin medio de transporte: < 15 minutos a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.

## **E. Observaciones**

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

### **9.1.3. EXUDADOS URETRALES**

#### **A. Material necesario**

- Torundas uretrales finas, con varilla de alambre no excesivamente flexible, de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte tipo Stuart-Amies o sin medio de transporte.
- Gasas estériles.

#### **B. Obtención de la muestra**

- Limpiar cuidadosamente la mucosa circundante con gasas estériles.
- Introducir la torunda suavemente con un movimiento de rotación hasta penetrar unos 2 cm dentro de la uretra (3-5 cm para la investigación de *Chlamydia trachomatis*).
- Repetir la operación con una segunda torunda.
- Cuando no haya suficiente exudado, puede estimularse mediante un masaje suave de la uretra contra la sínfisis del pubis, a través de la vagina.

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Se obtendrán dos torundas, una destinada al estudio microscópico y otra para cultivo.

#### **D. Transporte y conservación**

- Torundas sin medio de transporte: < 15 minutos a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.

## **E. Observaciones**

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

#### 9.1.4. EXUDADOS RECTALES

##### A. Material necesario

- Torundas uretrales finas, con varilla de alambre no excesivamente flexible, de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte tipo Stuart-Amies o sin medio de transporte.
- Guantes de goma.

##### B. Obtención de la muestra

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

##### C. Número de muestras y/o volumen

- Se obtendrán una torunda destinada al cultivo, dado que la visión microscópica no es representativa.

##### D. Transporte y conservación

- Torundas sin medio de transporte: < 15 minutos a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas

#### 9.1.5. EXUDADOS VAGINO-RECTALES

Para estudio de colonización (por *Streptococcus agalactiae*), en la semana 35 a 37 de gestación.

##### A. Material necesario

- Guantes de goma.
- Torunda de alginato cálcico o Dacron ó algodón con medio de transporte de Stuart-Amies o sin medio de transporte.

## **B. Obtención de la muestra**

- Se introducirá una torunda en la vagina dejándola dentro durante 10-30 segundos. No es necesario el uso de espéculo.
- Introducir a continuación dicha torunda suavemente a través del esfínter anal. Dejar 10-30 segundos para que se absorban los microorganismos y extraer.

## **C. Número de muestras y/o volumen**

- Basta con una torunda para cultivo.

## **D. Transporte y conservación**

- Torundas sin medio de transporte: < 15 minutos a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24-48 horas a temperatura ambiente o refrigerado a +4°C.

## **E. Observaciones**

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

### **9.1.6 ENDOMETRIO**

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

## **A. Material necesario**

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

## **B. Obtención de la muestra**

- Métodos no invasivos:

- Los métodos no invasivos como las torundas pasadas a través del cervix, se contaminan sistemáticamente, obteniéndose resultados similares en mujeres con endometritis y en mujeres sanas.
- Métodos invasivos:
  - Se han descrito varios métodos intentando eliminar la contaminación cervical, como son la aspiración uterina a través de un catéter de doble luz , el uso de torundas protegidas, o el método descrito por Martens et al. con el que se obtienen bajos índices de contaminación tomando las muestras con una torunda o aspirando con un catéter, previa dilatación y descontaminación del cérvix con Povidona yodada.
- Hemocultivos: siempre es recomendable en estos casos la toma de hemocultivos, ya que se obtienen resultados positivos en un 30% de los casos de endometritis.

#### C. Número de muestras y/o volumen

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

#### D. Transporte y conservación

- Torundas o aspirados sin medio de transporte: < 15 minutos a temperatura ambiente.
- Torundas o aspirados con medio de transporte: <24 horas a temperatura ambiente. No se garantiza la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.
- Hemocultivos: ver apartado correspondiente.

#### E. Observaciones

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

### 9.1.7 CULDOCENTESIS

#### A. Material necesario

- Material quirúrgico que requiera la técnica.

- Medio de transporte para cultivo de anaerobios.
- Contenedor estéril de cierre hermético.

#### **B. Obtención de la muestra**

- Aspirar a través del fondo de saco vaginal posterior con jeringa y aguja.

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Obtener de 1-5ml de muestra.

#### **D. Transporte y conservación**

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

#### **E. Observaciones**

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

### **9.1.8 TROMPAS Y OVARIOS**

#### **A. Material necesario**

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

#### **B. Obtención de la muestra**

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

### **C. Número de muestras y/o volumen**

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

### **D. Transporte y conservación**

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

## **9.1.9. VULVA**

### **A. Material necesario**

- Torundas de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte de Stuart-Amies o sin medio de transporte.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada al 5%.
- Jeringas y agujas estériles.
- Agua estéril.

### **B. Obtención de la muestra**

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

### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Abscesos: se intentará obtener la mayor cantidad posible (> 1ml).
- Lesiones: dos torundas, una destinada al examen microscópico y otra para cultivo.

### **D. Transporte y conservación**

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

#### 9.1.10. LESIONES CUTANEOMUCOSAS PARA CAMPO OSCURO

Para estudio de *Treponema pallidum*.

##### A. Material necesario

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

##### B. Obtención de la muestra

- Una vez colocados los guantes, se limpiará la superficie de la lesión con gasas humedecidas con suero salino. Se evitarán en la limpieza jabones u otras sustancias, ya que pueden tener actividad antitreponémica.
- Con una gasa seca se frotará suavemente la lesión hasta que se obtenga el fluido, intentando no producir demasiado sangrado, ya que pueden interferir en el examen microscópico.
- Limpiar las primeras gotas de exudado que se obtienen y dejar salir el fluido profundo a la superficie. Recoger el fluido por capilaridad con una pipeta Pasteur o un capilar.
- Colocar una gota de fluido en un portaobjetos limpio y examinar inmediatamente en microscopio con campo oscuro. Si es necesario añadir 1 gota de suero salino. También puede aplicarse el portaobjetos directamente sobre el fluido para recogerlo.

##### C. Número de muestras y/o volumen

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

##### D. Transporte y conservación

- La toma debe realizarse en el mismo laboratorio y procederse de inmediato al examen microscópico de la misma.

#### 9.1.11. GANGLIOS LINFÁTICO INGUINALES

Es la muestra adecuada ante sospecha de infección por *Haemophilus ducreyi*.

#### **A. Material necesario**

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

#### **B. Obtención de la muestra**

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

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

- La máxima cantidad de muestra que se pueda obtener.

#### **D. Transporte y conservación**

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

#### **E. Observaciones**

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

### **9.1.12. LIQUIDO AMNIOTICO**

#### **A. Material necesario**

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

**B. Obtención de la muestra**

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

**C. Número de muestras y/o volumen**

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

**D. Transporte y conservación**

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

**9.1.13. PRODUCTOS DE LA CONCEPCION**

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

**A. Material necesario**

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

**B. Obtención de la muestra**

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

**C. Número de muestras y/o volumen**

- Productos de la concepción: se intentará obtener muestras de 1-10 cm<sup>3</sup>.
- Hemocultivos: ver apartado correspondiente.

**D. Transporte y conservación**

- Productos de la concepción:

- Muestras sin medio de transporte: < 15 minutos a temperatura ambiente.
  - Muestras con medio de transporte: < 24 horas mantenidas a temperatura ambiente.
- Hemocultivos: ver apartado correspondiente

#### D. Observaciones

- Son muestras habitualmente muy contaminadas y difíciles de evaluar.

### 9.2. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO

#### 9.2.1. EXUDADOS URETRALES

##### A. Material necesario

- Torundas uretrales finas, con varilla de alambre no excesivamente flexible, de alginato cálcico o Dacron con medio de transporte tipo Stuart-Amies o sin medio de transporte.
- Gasas estériles.

##### B. Obtención de la muestra

- Cuando exista exudado franco puede recogerse con una torunda. El exudado puede estimularse exprimiendo la uretra.
- Cuando no se obtenga exudado se introducirá una torunda suavemente con un movimiento de rotación hasta penetrar unos 2 cm dentro de la uretra (3-5 cm para la investigación de *Chlamydia trachomatis*)(Fig. nº 4).
- Repetir la operación con una segunda torunda.

### **C. Número de muestras v/o volumen**

- Se obtendrán dos torundas, una destinada al estudio microscópico y otra para cultivo.

### **D. Transporte y conservación**

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

### **E. Observaciones**

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

#### **9.2.2. EXUDADOS RECTALES**

**Ver apartado 9.1.4**

#### **9.2.3. GANGLIOS LINFATICOS INGUINALES**

**Ver apartado 9.1.11**

#### **9.2.4. LESIONES CUTANEOMUCOSAS PARA CAMPO OSCURO (CHANCROS)**

**Ver apartado 9.1.10**

#### **9.2.5. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE PROSTATITIS**

### **A. Material necesario**

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

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

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

## **C. Número de muestras y/o volumen**

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

## **D. Transporte y conservación**

- Las muestras deberán procesarse en < 1 hora.
- Para períodos mas prolongados las orinas se conservarán en medios de transporte para orinas (ver apartado urocultivos) o refrigeradas a +4°C y el fluido prostático/semen se conservará en nevera a + 4°C durante un período máximo de 24 horas.

## **E. Observaciones**

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

### 9.3. MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE CHLAMYDIA Y MYCOPLASMA

#### 9.3.1. MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Esta determinación aún no se realiza en este Laboratorio.

*Chlamydia trachomatis* sólo afecta a células del epitelio de transición como las del cérvix, por lo que las muestras vaginales no son adecuadas para esta determinación.

##### A. Material necesario

- Mujeres: ver apartado 9.1.2. (exudados endocervicales).
- Varones: ver apartado 9.2.1. (exudados uretrales).
- Torundas de alginato cálcico o Dacron.
- Medio de transporte 2-SP (medio sucrosa-fosfato).

##### B. Obtención de la muestra

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

##### C. Número de muestras y/o volumen

- Generalmente es suficiente con una torunda destinada exclusivamente al aislamiento de *Chlamydia*.

##### D. Transporte y conservación

- Las muestras que no puedan procesarse de inmediato deberán incluirse en un medio de transporte específico (medio 2-SP) y conservarse en nevera durante < 24 horas. Para períodos mas prolongados deberán congelarse a – 70°C.

#### 9.3.2. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE MYCOPLASMA SP.

##### A. Material necesario

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

- **Torundas de algodón o de alginato cálcico o Dacron.**
- **Medio de transporte de Stuart-Amies.**

**B. Obtención de la muestra**

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

**C. Número de muestras y/o volumen**

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

**D. Transporte y conservación**

- **Las muestras que no puedan procesarse de inmediato deberán incluirse en un medio de transporte específico (medio de Stuart-Amies) y conservarse en nevera durante < 24 horas. Para períodos mas prolongados deberán congelarse a  $-70^{\circ}\text{C}$ .**

## 10. EXUDADOS OCULARES

### 10.1. FROTIS CONJUNTIVALES

#### A. Material necesario

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

#### B. Obtención de la muestra

- La muestra debe obtenerse antes de la instilación de analgésicos locales, colirios o antibióticos.
- Debe obtenerse una muestra de cada ojo con torundas separadas y bien diferenciadas.
- Con una torunda mojada en suero fisiológico frotar sobre la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix.
- Es aconsejable además realizar una extensión sobre portaobjetos de ambas conjuntivas, las cuales se enviarán debidamente diferenciadas, para lo cuál se tomarán las muestras como se señala en el punto anterior, con otras torundas.
- Para investigación de *Chlamydia trachomatis* (técnica aún no disponible), evertter el párpado y frotar con una torunda la superficie conjuntival.

#### C. Número de muestras y/o volumen

- Una torunda para cada ojo.
- Una extensión en portaobjetos para cada ojo.

#### D. Transporte y conservación

- Lo más aconsejable es su envío sin medio de transporte en <2 horas a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas a temperatura ambiente.
- Para detección de *Chlamydia* se utilizaría un medio de transporte específico (“2-SP”).

#### E. Observaciones

- Los cultivos preoperatorios de conjuntiva no son útiles. El número y tipo de microorganismos de la conjuntiva normal varía diariamente, por lo que

estas muestras no son válidas, excepto en el caso de signos inflamatorios a nivel ocular.

## 10.2. RASPADOS CONJUNTIVALES

### A. Material necesario

- Espátula de platino flexible de Kimura.
- Anestésico local (clorhidrato de propacaína al 0.5%).
- Medios de cultivo adecuados.
- Portaobjetos limpios con círculos marcados.

### B. Obtención de la muestra

- Instilar una o dos gotas de anestésico. Preferiblemente se utilizará clorhidrato de propacaína, ya que es el anestésico local que inhibe menos el crecimiento bacteriano.
- Raspar suavemente con la espátula de Kimura la conjuntiva tarsal inferior, sin inducir el sangrado. El material obtenido deberá cultivarse directamente en los medios de cultivo apropiados y otra pequeña parte se extiende sobre un portaobjetos limpio.
- Cultivo directo en los medios apropiados, que serán proporcionados por el laboratorio de Microbiología inmediatamente antes de la toma.

### C. Número de muestras y/o volumen

- Medios de cultivo previamente inoculados.
- Extensión en portaobjetos.

### D. Transporte y conservación

- Envío inmediato.

### E. Observaciones

- Junto con los medios de cultivo, se darán por parte del personal del laboratorio las instrucciones precisas para la correcta inoculación y manejo de dichos medios, para evitar posibles contaminaciones.

### 10.3. RASPADOS CORNEALES

#### A. Material necesario

- Espátula de platino flexible de Kimura.
- Anestésico local (clorhidrato de propacaína al 0.5%).
- Medios de cultivo adecuados.
- Portaobjetos limpios con círculos marcados.

#### B. Obtención de la muestra

- Instilar una o dos gotas de anestésico. Preferiblemente se utilizará clorhidrato de propacaína, ya que es el anestésico local que inhibe menos el crecimiento bacteriano.
- Raspar suavemente con la espátula de Kimura la conjuntiva tarsal inferior, sin inducir el sangrado en múltiples áreas de ulceración. El material obtenido deberá cultivarse directamente en los medios de cultivo apropiados y otra pequeña parte se extiende sobre un portaobjetos limpio.
- Cultivo directo en los medios apropiados, que serán proporcionados por el laboratorio de Microbiología inmediatamente antes de la toma.

#### C. Número de muestras y/o volumen

- Medios de cultivo previamente inoculados.
- Extensión en portaobjetos.

#### D. Transporte y conservación

- Envío inmediato.

#### E. Observaciones

- Junto con los medios de cultivo, se darán por parte del personal del laboratorio las instrucciones precisas para la correcta inoculación y manejo de dichos medios, para evitar posibles contaminaciones.
- Obtener frotis conjuntivales antes del raspado corneal. El estudio de estas muestras puede ser útil para valorar posibles contaminaciones de los cultivos corneales.

## **11. EXUDADOS OTICOS**

### **11.1. OIDO EXTERNO**

#### **A. Material necesario**

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

#### **B. Obtención de la muestra**

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

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Una torunda para cada oído.

#### **D. Transporte y conservación**

- Torundas sin medio de transporte: < 2 horas a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

#### **E. Observaciones**

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

### **11.2. OIDO MEDIO**

#### **A. Material necesario**

- Material necesario para miringocentesis (Timpanocentesis).
- Torundas de algodón con medio de transporte para anaerobios y sin medio de transporte.

- Contenedor estéril de cierre hermético.
- Povidona yodada al 10%.

#### **B. Obtención de la muestra**

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

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

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

#### **D. Transporte y conservación**

- Torundas sin medio de transporte: < 2 horas a temperatura ambiente.
- Torundas con medio de transporte: < 24 horas conservadas a temperatura ambiente.

#### **E. Observaciones**

- Las muestras obtenidas con torunda no son buenas para cultivo de anaerobios.

## **12. PIEL Y TEJIDOS BLANDOS**

### **12.1. Úlceras y heridas superficiales**

#### **12.2. Exantemas**

#### **12.3. Abscesos cerrados**

#### **12.4. Fístulas**

### **12.1. ULCERAS Y HERIDAS SUPERFICIALES**

#### **A. Material necesario**

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

#### **B. Obtención de la muestra**

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

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

- **Muestras líquidas: 1-10 ml.**
- **Muestras obtenidas con torunda:**
  - **Una torunda para cultivo.**
  - **Una torunda para examen microscópico.**

#### **D. Transporte y conservación**

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

## **E. Observaciones**

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

## **12.2. EXANTEMAS**

### **A. Material necesario**

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada al 10%.
- Jeringa y agujas estériles.
- Medio de transporte para cultivo de anaerobios.
- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.

### **B. Obtención de la muestra**

- Desinfectar la piel. Limpiar la zona con alcohol etílico o isopropílico al 70%, de forma concéntrica comenzando por el centro. Abarcar una zona de unos 10 cm.
- Repetir la operación con Povidona yodada al 10%. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, se utilizará alcohol dos veces consecutivas.
- Dejar secar al menos 1 minuto para que la Povidona ejerza su acción antiséptica.
- Realizar una aspiración directamente con jeringa y aguja.
- Cuando la muestra obtenida sea insuficiente, instilar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y aspirarlo nuevamente en la jeringa.

### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Se intentará obtener el mayor volumen posible.

### **D. Transporte y conservación**

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

## **E. Observaciones**

- Las muestras obtenidas con jeringa cuyo envío al laboratorio sea inmediato se mandarían en la misma jeringa de extracción.

### **12.3. ABSCESOS CERRADOS**

#### **A. Material necesario**

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada al 10%.
- Jeringa y agujas estériles.
- Medio de transporte para cultivo de anaerobios.
- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.

#### **B. Obtención de la muestra**

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

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

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

#### **D. Transporte y conservación**

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

## **E. Observaciones**

- Las muestras cuyo envío al laboratorio sea inmediato se mandarían en la misma jeringa de extracción.

- Es muy importante especificar en el volante de petición la localización del absceso con vistas a la interpretación de los resultados.

## 12.4. FISTULAS

### A. Material necesario

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada al 10%.
- Jeringa y agujas estériles.

### B. Obtención de la muestra

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

### C. Número de muestras y/o volumen

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

### D. Transporte y conservación

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

### E. Observaciones

- Este tipo de muestras son inadecuadas para la investigación de anaerobios. Los trayectos fistulosos suelen estar colonizados habitualmente por distintos microorganismos que no están implicados en la patogenia del proceso, por lo que estas muestras habitualmente son poco rentables y hay que evaluar los resultados con precaución.

### 13. MUESTRAS ODONTOLÓGICAS

#### A. Material necesario

- Torundas de algodón estériles.
- Puntas de papel estéril.
- Anestésico local.
- Cureta.
- Sistema de transporte para anaerobios.

#### B. Obtención de la muestra

- Placa subgingival y supragingival:
  - Tras aislar la zona de donde se obtendrá la muestra con rollos de algodón, se obtiene la misma por curetaje.
- Canal dental:
  - Se desinfecta y se introducen en el canal 1 ó 2 puntas de papel hasta el fondo del canal.
- Bolsa periodontal:
  - Tras limpiar la placa supragingival se toma la muestra con cureta estéril introduciéndola lo más vertical posible hasta el fondo de la bolsa periodontal.
- Abscesos:
  - Tras desinfección, puncionar el contenido del mismo.

#### C. Número de muestras y/o volumen

- La mayor cantidad que sea posible.

#### D. Transporte y conservación

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

## **14. CATETERES Y DRENAJES**

### **14.1. CATETERES INTRAVASCULARES**

#### **A. Material necesario**

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

#### **B. Obtención de la muestra**

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

#### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Enviar 5 cm de la porción más distal.

#### **D. Transporte y conservación**

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

### **14.2. OTROS CATETERES Y DRENAJES**

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

## 15. BIOPSIAS

### A. Material necesario

- El material quirúrgico estéril que precise la técnica empleada para la obtención de las biopsias de distintas localizaciones.
- Recipientes estériles con tapa de rosca y cierre hermético.
- Suero salino estéril.
- Jeringas y agujas estériles.
- Sistemas de transporte para anaerobios.

### B. Obtención de la muestra

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

### C. Número de muestras y/o volumen

- Muestras sólidas: se recomienda obtener una pieza de 5-10cm<sup>3</sup>
- Muestras líquidas: 5-10ml.

### D. Transporte y conservación

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

### E. Observaciones

- Es muy importante no introducir las muestras en formol ni otras sustancias que puedan inhibir el crecimiento de microorganismos, ni utilizar recipientes de dudosa esterilidad.

- **Dado que estas muestras suelen ser de extrema importancia, difícil obtención, con riesgos y molestias para el paciente, y en muchas ocasiones son insustituibles, es recomendable que antes de iniciar el procedimiento se establezca contacto con el Servicio de Microbiología para evitar posibles errores y orientar las investigaciones posteriores con relación a las distintas sospechas clínicas.**
- **Evitar la desecación de la muestra.**

## 16. NECROPSIAS

### A. Material necesario

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

### B. Obtención de la muestra

- Las muestras se recogerán preferentemente antes de que el cadáver se manipule demasiado o se abra.
- La piel o las superficies serosas de los órganos deben desinfectarse antes de realizar punciones o extraer bloques de tejidos. Para esto pueden seguirse los procedimientos generales de desinfección, utilizando consecutivamente alcohol etílico o isopropílico al 70% y Povidona yodada al 10%, o bien, cauterizar mediante una espátula al rojo.
- Muestras sólidas:
  - Se enviará una cuña de unos de 5-10 cm<sup>3</sup>, que incluya una superficie serosa o capsular intacta.
- Muestras líquidas:
  - Se obtendrán por aspiración con jeringa y aguja siguiendo técnicas estrictamente asépticas.
- Muestras de sangre:
  - Se obtendrán por punción-aspiración de cavidades cardíacas derechas.
  - La sangre así obtenida se inoculará en los frascos de hemocultivos siguiendo las instrucciones del apartado correspondiente.

### C. Número de muestras y/o volumen

- Muestras sólidas: se recomienda obtener una pieza de 5-10cm<sup>3</sup>.
- Muestras líquidas: 5-10ml.
- Muestras de sangre: 5-10ml.

### D. Transporte y conservación

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

## **E. Observaciones**

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

## **17. MEDULA OSEA: ASPIRADOS**

### **A. Indicaciones**

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

### **B. Material necesario**

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

### **C. Obtención de la muestra**

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

### **D. Número de muestras y/o volumen**

- **Volumen: >1ml.**

### **E. Transporte y conservación**

- **Envío inmediato al laboratorio en tubos estériles con presión negativa con heparina y sin conservantes.**

## 18. INVESTIGACION DE MICROORGANISMOS ESPECIALES

### 18.1. Anaerobios

### 18.2. Micobacterias

### 18.3. Hongos

### 18.4. Parásitos

#### 18.1. ANAEROBIOS

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

##### 18.1.1. Tipos de muestras

- Son muestras válidas cualquier fluido o tejido procedente de localizaciones habitualmente estériles.
- En general no son válidas las tomas superficiales.

#### MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Sistema Nervioso Central	<ul style="list-style-type: none"><li>• Aspirado de abscesos o empiema subdural</li><li>• Biopsia quirúrgica</li><li>• Hisopos obtenidos en una intervención quirúrgica y transportados en medio para anaerobios</li><li>• LCR</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hisopos transportados sin medio para anaerobios.</li></ul>
Cabeza y Cuello	<ul style="list-style-type: none"><li>• Aspirado de abscesos o colecciones.</li><li>• Biopsia quirúrgica</li><li>• Hisopos obtenidos en una intervención quirúrgica y transportados en medio para anaerobios</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hisopos faríngeos o nasofaríngeos</li><li>• Otros materiales superficiales tomados con hisopos (bucales, óticos, etc.)</li></ul>
Pulmones	<ul style="list-style-type: none"><li>• Aspiración transtraqueal</li><li>• Aspirado pulmonar percutáneo</li><li>• Líquido de toracotomía</li><li>• Cepillado bronquial</li><li>• Hisopos obtenidos en una intervención quirúrgica y transportados en medio para anaerobios</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Esputo y esputo inducido</li><li>• Aspirado endotraqueal</li><li>• Exudado de traqueotomía</li><li>• BAS y BAL</li></ul>
Aparato Circulatorio	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sangre</li><li>• Líquido pericárdico</li><li>• Tejido de válvula cardiaca</li></ul>	

MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Abdomen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aspiración percutánea de líquido abdominal</li> <li>• Aspiración de abscesos vía quirúrgica o percutánea con control TCA o ultrasonidos</li> <li>• Biopsia quirúrgica</li> <li>• Hisopos obtenidos en una intervención quirúrgica y transportados en medio para anaerobios</li> <li>• Bilis obtenida quirúrgicamente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hisopos transportados sin medio para anaerobios.</li> <li>• Tomas superficiales con hisopos</li> </ul>
Estómago e Intestino delgado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sólo para:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Síndrome asa ciega</li> <li>- Síndrome mala absorción</li> <li>- Intoxicación botulínica</li> </ul> </li> </ul>	
Intestino grueso	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Heces solo para detección de toxinas de <i>C. difficile</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Heces</li> <li>• Efluentes de ileostomía</li> <li>• Efluentes de colostomía</li> </ul>
Vías urinarias	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Orina de punción suprapúbica</li> <li>• Nefrostomía</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Orina por micción</li> <li>• Orina por sondaje</li> </ul>

MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Aparato Genital Femenino	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Líquido peritoneal obtenido por culdocentesis, laparoscopia</li> <li>• Aspirado endometrial obtenido por succión o por colector protegido</li> <li>• Biopsia quirúrgica</li> <li>• Aspiración de abscesos</li> <li>• Hisopos obtenidos en una intervención quirúrgica y transportados en medio para anaerobios</li> <li>• DIU para detección de <i>Actinomyces</i> y <i>Eubacterium nodatum</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hisopos vaginales</li> <li>• Hisopos cervicales</li> </ul>
Hueso	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aspiración profunda a través de la piel</li> <li>• Biopsia quirúrgica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hisopos de material superficial</li> </ul>
Articulación	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aspiración percutánea de líquido articular</li> </ul>	
Tejidos blandos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aspiración percutánea de heridas abiertas, úlceras y abscesos</li> <li>• Biopsia quirúrgica</li> <li>• Aspirado profundo de fístulas y heridas profundas con jeringa o catéter</li> <li>• Tejidos de úlceras o heridas obtenidas por raspado</li> <li>• Hisopos de la base de úlceras transportados con medio para anaerobios (muestra menos apropiada)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Material superficial de piel, mucosas, úlceras, escaras, heridas o fístulas</li> </ul>

### **18.1.2. Material necesario**

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

### **18.1.3. Obtención de la muestra**

- Ver apartado correspondiente, según tipo de muestra.

### **18.1.4. Número de muestras y/o volumen**

- La mayor cantidad posible, así se preserva la viabilidad de la bacteria.
- Muestras líquidas: enviar un volumen de 1 – 10ml. Cuando se empleen tubos de tapón de rosca procurar llenarlos al máximo.
- Tejidos: si es posible  $> 1 \text{ cm}^3$ .
- Muestras tomadas con hisopos: hay que recoger la máxima cantidad de exudado que sea posible.

### **18.1.5. Transporte y conservación**

- En general se mantienen mejor los exudados purulentos que los no purulentos, porque en su composición entran numerosos elementos químicos reductores.
- Las muestras con gran volumen, tanto muestras líquidas como de tejidos, se conservan mejor, porque en ellas se dificulta la difusión del oxígeno.
- Medios de transporte de muestras para cultivo de anaerobios:
  - Viales y tubos con tapón de rosca, atmósfera anaerobia y base de agar (en el que se incluye un indicador de anaerobiosis): los tubos están indicados para transporte de hisopos, los cuales se introducen en la profundidad del agar, evitando la difusión del oxígeno. Una vez roto el palo del hisopo el frasco se cierra rápidamente. Los viales sirven para el transporte de líquidos y aspirados, los cuales se inyectan previa desinfección del tapón de goma, evitando introducir aire.
  - Tubos para el transporte de hisopos: son aquellos medios de transporte en los que una vez introducido el hisopo se genera una atmósfera de anaerobiosis.
  - Tubos con atmósfera anaerobia y un medio de transporte prerreducido: las muestras líquidas se inyectan previa desinfección del tapón de goma. Los tejidos e hisopos se introducen desenroscando el tapón y abriendo el frasco. En estos casos es importante mantener vertical el frasco, pues los gases empleados para conseguir la atmósfera son más pesados que el aire, y así se impide la penetración de éste manteniendo el estado de reducción.

- **Bolsas de plástico con sistema generador de anaerobiosis:** se utilizan para el transporte de muestras en placas de Petri o frascos para recogida de orina. Se cierran, una vez introducida la muestra y activado el sistema generador de anaerobiosis, por medio de pinzas o un sistema hermético.
- **Muestras líquidas:**
  - **Volumen abundante:** tubo estéril de vacío, procurando que el contenido llegue cerca del tapón y manteniendo la posición vertical para evitar la oxigenación.
  - **Volumen pequeño o transporte no inmediato:** conviene su envío en un medio de transporte adecuado.
- **Tejidos:**
  - Si el transporte es inmediato se enviarán en tubos de tapón de rosca y si son de gran tamaño, en placas de Petri o recipientes para la recogida de orina.
  - Si el transporte es diferido utilizar el medio de transporte más adecuado de los anteriormente descritos.
  - Los cepillos protegidos tomados por broncoscopia se colocarán si se quiere cultivo de anaerobios en tubos con caldo prerreducido que además sirve de diluyente.
- **Hisopos:** se utilizará uno de los sistemas comerciales para transporte de muestras para estudio de anaerobios, siguiendo el procedimiento antes señalado.
- Las muestras se mantendrán a temperatura ambiente, la refrigeración disminuye el número de microorganismos viables. Solamente LCR se mantendrán en estufa.

## **18.2 MICOBACTERIAS**

### **18.2.1 Normas generales**

#### **18.2.2. Muestras de origen respiratorio**

##### **18.2.2.1. Esputo**

##### **18.2.2.2. Jugo gástrico**

##### **18.2.2.3. Punción transtraqueal**

##### **18.2.2.4. Muestras respiratorias obtenidas por fibrobroncoscopia**

##### **18.2.2.5. Muestras obtenidas por abordaje percutáneo**

#### **18.2.3. Muestras extrapulmonares**

##### **18.2.3.1. Líquidos y Biopsias pleurales**

#### **18.2.4. Orina**

#### **18.2.5. Líquido cefalorraquídeo**

#### **18.2.6. Otros líquidos orgánicos**

#### **18.2.7. Sangre**

- 18.2.8. Biopsias
- 18.2.9. Médula ósea
- 18.2.10. Heces
- 18.2.11. Abscesos

#### 18.2.1. NORMAS GENERALES

- Deben mantenerse las normas generales correspondientes a las tomas habituales y observar en cada caso las peculiaridades que se indican para cada una de las muestras obtenidas.
- Los envases empleados serán estériles y de cierre hermético.
- No se añadirá a la muestra ninguna sustancia conservadora ni antiséptica.
- Se mantendrá protegida de la luz y el calor.
- La temperatura ideal para su conservación es de 4°C.
- En todo momento se adoptarán las medidas necesarias para evitar que las muestras contaminen el ambiente o las personas.
- Evitar la contaminación del material necesario para la toma de muestras con agua del grifo u otros líquidos que puedan contener micobacterias ambientales.
- Las muestras obtenidas con torunda no son recomendables.

#### 18.2.2. MUESTRAS DE ORIGEN RESPIRATORIO

##### 18.2.2.1. ESPUTO

##### A. Material necesario

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

##### B. Obtención de la muestra

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

**C. Número de muestras y/o volumen**

- De tres a seis muestras obtenidas en días consecutivos.
- Volumen mínimo: 2-10ml.

**D. Transporte y conservación**

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

**E. Observaciones**

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

**18.2.2.2. JUGO GASTRICO**

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

**A. Material necesario**

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

**B. Obtención de la muestra**

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

### **C. Número de muestras y/o volumen**

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

### **D. Transporte y conservación**

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

### **E. Observaciones**

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

### **18.2.2.3. PUNCION TRANSTRAQUEAL**

- Según técnica señalada en el apartado de toma de muestras del tracto respiratorio inferior.
- Se recomienda no utilizar medios de transporte.
- Envío al laboratorio en < 1 hora.

### **18.2.2.4. MUESTRAS RESPIRATORIAS OBTENIDAS POR FIBROBRONCOSCOPIO**

#### **A. Material necesario y obtención de la muestra**

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

- Broncoaspirado.
- Cepillado bronquial por catéter telescópico.
- Lavado broncoalveolar.
- Biopsia transbronquial.

**B. Número de muestras y/o volumen**

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

**C. Transporte y conservación**

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

**D. Observaciones**

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

**18.2.2.5. MUESTRAS OBTENIDAS POR ABORDAJE PERCUTANEO**

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

**18.2.3. MUESTRAS EXTRAPULMONARES**

**18.2.3.1. LIQUIDOS Y BIOPSIAS PLEURALES**

**A. Material necesario y obtención de la muestra**

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

**B. Número de muestras y/o volumen**

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

### **C. Transporte y conservación**

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

## **18.2.4 ORINA**

### **A. Material necesario**

- Envase estéril de al menos 200 ml de capacidad, de boca ancha y cierre hermético.

### **B. Obtención de la muestra**

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

### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Tres muestras en días consecutivos.
- Volumen > 40ml.

### **D. Transporte y conservación**

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

### **E. Observaciones**

- Lavado minucioso de los genitales como se indica para urocultivo.
- Es recomendable suspender cualquier tratamiento antimicrobiano de 3 a 5 días antes de la toma.
- Muestras inaceptables:
  - Muestras emitidas durante 24 horas.
  - Orinas recogidas de la bolsa de catéter permanente.
  - Muestras no recogidas de la primera micción de la mañana.
  - Muestras con volumen inferior a 40ml.

### **18.2.5. LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO**

#### **A. Material necesario y obtención de la muestra**

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

#### **B. Número de muestras y/o volumen**

- Para estudio de micobacterias se recomienda un volumen mínimo de 10 a 2ml.

#### **C. Transporte y conservación**

- Envío al laboratorio en < 1 hora.

### **18.2.6. OTROS LIQUIDOS ORGANICOS**

#### **A. Material necesario y obtención de la muestra**

- Según técnica señalada en el apartado correspondiente.

#### **B. Número de muestras y/o volumen**

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

#### **C. Transporte y conservación**

- Envío al laboratorio en < 1 hora.

#### **E. Observaciones**

- Las muestras hemorrágicas deben anticoagularse con heparina o SPS.

### **18.2.7. SANGRE**

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

- Realizar de 3 a 5 extracciones en días consecutivos.

#### **18.2.8. BIOPSIAS**

##### **A. Material necesario y obtención de la muestra**

- Según técnica señalada en el apartado correspondiente.

##### **B. Número de muestras y/o volumen**

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

##### **C. Transporte y conservación**

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

##### **D. Observaciones**

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

#### **18.2.9. MEDULA OSEA**

- Las muestras deben recogerse con heparina o SPS (las muestras sin anticoagulante o con EDTA son inaceptables).
- Se recogerá la máxima cantidad que sea posible.

#### **18.2.10. HECES**

- Se recogerá al menos 1gr en un contenedor estéril.
- La utilidad de los cultivos y tinciones es controvertida.

#### **18.2.11. ABSCESOS**

- Se recogerá por punción-aspiración tanta cantidad como sea posible.

- Muestras obtenidas por hisopo solo son aceptables cuando no sea posible obtenerla por punción-aspiración.

### 18.3. HONGOS

#### A. Material necesario

#### B. Requisitos previos

#### C. Obtención de la muestra

##### 18.3.1. Escamas

##### 18.3.2. Cabellos y pelos

##### 18.3.3. Fragmentos de uña y tejido periungueal

##### 18.3.3.1. Micosis ungueales

##### 18.3.3.2. Perionixis

##### 18.3.4. Exudados de mucosas

##### 18.3.5. Exudados de úlceras

##### 18.3.6. Muestras oftalmológicas

##### 18.3.7. Pus de abscesos

##### 18.3.8. Pus de fístulas

##### 18.3.9. Muestras de aparato respiratorio inferior

##### 18.3.10. Sangre

##### 18.3.11. Otros líquidos biológicos

##### 18.3.12. Biopsia de tejidos u órganos

#### D. Observaciones

#### A. Material necesario

- Recipiente estéril de cierre hermético.
- Placas de Petri estériles.
- Lanceta, bisturí, espátulas, pinzas de depilar, tijeras, cortaúñas, tijeras curvas y finas estériles.
- Torundas o escobillones estériles
- Líquido de transporte: suero fisiológico con 500 U/ml de Penicilina + 500 mcg/ml de Estreptomina o 500 mcg/ml de Cloranfenicol.
- Cinta celulósica transparente adhesiva.
- Portaobjetos limpios.
- Tubos estériles.
- Jeringas y agujas estériles.
- Solución salina estéril.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.

#### B. Requisitos previos

- No haberse aplicado ningún producto antifúngico por vía local o general, al menos en los cuatro días precedentes a la toma para cultivo.

- Como medida general limpiar la piel, donde se vaya a realizar la toma, con alcohol etílico o isopropílico al 70%.

### **C. Obtención de la muestra**

#### **18.3.1. ESCAMAS**

- En el caso de lesiones cutáneas secas, se raspan las escamas con la ayuda de una lanceta o mejor un bisturí estéril, sobre todo en las zonas de la periferia de la lesión, zona donde el hongo generalmente tiene mejor viabilidad, ya que este tipo de microorganismo se desarrolla de modo centrífugo a partir del punto de inoculación. Si la lesión es pequeña se raspa en su totalidad. Las escamas se hacen caer dentro de una placa de Petri estéril.
- En el caso de la pitiriasis versicolor, en la que el hongo está localizado en las células epidérmicas superficiales, se aplica sobre la lesión un fragmento de cinta adhesiva transparente, se tira enérgicamente y se pega sobre un portaobjetos.
- En el caso de lesiones cutáneas exudativas, se hace la toma con un escobillón estéril, humedecido en solución salina fisiológica estéril.

#### **18.3.2. CABELLOS Y PELOS**

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

#### **18.3.3. FRAGMENTOS DE UÑA Y TEJIDO PERIUNGUEAL**

##### **18.3.3.1. MICOSIS UNGUEALES**

- La zona donde se debe hacer la toma por raspado es: la base de la uña, surco periungueal en caso de onixis por *Candida*, o la extremidad de la misma en el caso de onicomycosis por dermatofitos.
- Hay que coger también las escamas por debajo de las uñas introduciendo un bisturí o una lanceta estériles en el lecho subungueal

anterior, que suele estar despegado, raspando pacientemente hasta llegar a la zona dolorosa, donde extraeremos el material de mejor calidad. Posteriormente se cortan con una tijera fina, curva y estéril fragmentos de la uña afectada. El material obtenido se recoge en una placa de Petri.

#### **18.3.3.2. PERIONIXIS**

- En caso de lesiones supuradas de perionixis, se extrae el pus mediante presión y se recoge con un escobillón estéril.

#### **18.3.4. EXUDADOS DE MUCOSAS**

- La toma a nivel de mucosas se realiza por raspado con el borde romo de un bisturí estéril o escobillón estéril, y si el examen no se realiza precozmente, se agregan de 1-2ml del medio de transporte arriba señalado, excepto cuando se sospeche de nocardiosis o actinomicosis .
- Se debe hacer simultáneamente una extensión en portaobjetos para examen microscópico posterior.

#### **18.3.5. EXUDADOS DE ULCERAS**

- En las úlceras de piel y mucosas, la toma se realiza raspando con bisturí estéril los bordes y fondo de la misma, poniendo especial interés en los bordes, para obtener escamas dérmicas, así como las costras o porciones vegetantes si las hubiera, ayudándose de unas pinza estériles.
- En todas las lesiones ulcerosas o vegetantes es muy útil la biopsia, muestra a tomar por el especialista correspondiente. Seguir instrucciones señaladas en apartado correspondiente.

#### **18.3.6. MUESTRAS OFTALMOLOGICAS**

- En caso de raspado corneal, toma a realizar por un especialista en Oftalmología, debe realizarse la siembra directa en medio de Sabouraud-Cloranfenicol.

#### **18.3.7. PUS DE ABSCESOS**

- Elegir los abscesos cerrados, pues en los abiertos la contaminación bacteriana masiva puede dificultar el diagnóstico.
- La toma se realiza por punción en la zona fluctuante. Es recomendable utilizar jeringa con aguja gruesa, transportándolo en la misma jeringa al laboratorio.

#### **18.3.8. PUS DE FISTULAS**

- En caso de lesiones supurativas fistulizadas: actinomicosis, nocardiosis, micetomas, maduromicosis, etc., se procurará recoger la mayor cantidad posible de exudado, por expresión de los trayectos fistulosos, dejando caer el mismo en el interior de un tubo estéril.
- Es muy importante la recogida de gránulos expulsados a través de la fístula, en cuyo caso pueden recogerse con apósitos y ser colocados en el interior de una placa de Petri.

#### **18.3.9. MUESTRAS DE APARATO RESPIRATORIO INFERIOR**

- Para este tipo de estudios son mejores las muestras obtenidas por fibrobroncoscopia.
- Es recomendable enviar al laboratorio lo antes posible o conservar en frigorífico a +4°C.

#### **18.3.10. SANGRE**

- Ver apartado correspondiente de Hemocultivos.

#### **18.3.11. OTROS LIQUIDOS BIOLOGICOS**

- Ver apartado correspondiente.

### **18.3.12. BIOPSIA DE TEJIDOS U ORGANOS**

- La biopsia es uno de los procedimientos más seguros para el diagnóstico de micosis interna.
- La pieza de biopsia se divide en 2 fragmentos: uno para enviar a Anatomía Patológica y otro para Microbiología. Este último debe introducirse en un tubo estéril de cierre hermético con medio de transporte arriba mencionado excepto si se sospecha nocardiosis o actinomicosis.

### **D. Observaciones**

- Debido a la creciente patología producida por hongos oportunistas es muy importante extremar las condiciones de asepsia necesarias para una correcta toma, que evite las posibles contaminaciones por hongos saprofitos y/o aerovagantes.

### **18.3.13. PNEUMOCYSTIS CARINII**

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

## **18.4. PARASITOS**

### **18.4.1. Parásitos intestinales**

- A. Material necesario**
- B. Obtención de la muestra**
- C. Número de muestra y/o volumen**
- D. Transporte y conservación**
- E. Investigación de Oxiuros (Test de Graham)**
- F. Investigación de amebas intestinales**

### **18.4.2. Parásitos extraintestinales**

#### **18.4.2.1. Parásitos urogenitales**

- 18.4.2.1.1. Trichomoniasis
- 18.4.2.1.2. Oxiurosis vaginal
- 18.4.2.2. Parásitos vesicales
  - 18.4.2.2.1. Esquistosomiasis
  - 18.4.2.2.2. Filariasis (*Wuchereria bancrofti*)
- 18.4.2.3. Parásitos en sangre y tejido
  - 18.4.2.3.1. Paludismo
  - 18.4.2.3.2. Filariasis en sangre
  - 18.4.2.3.3. Filarias en tejidos
  - 18.4.2.3.4. Tripanosomiasis
  - 18.4.2.3.5. Leishmaniasis
  - 18.4.2.3.6. Toxoplasmosis
  - 18.4.2.3.7. Triquinosis
- 18.4.2.4. Parásitos pulmonares
  - 18.4.2.4.1. Quiste hidatídico
  - 18.4.2.4.2. Duelas respiratorias y larvas de Nemátodos

#### 18.4.1. PARASITOS INTESTINALES

##### A. Material necesario

- Recipiente (orinal o similar) lo más amplio posible.
- Frascos estériles de boca ancha y cierre hermético con conservante.

##### B. Obtención de la muestra

- 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, fruta, pan tostado ( no integral), pastas, arroz, huevos, hígado y sesos.
- En algunos casos es necesario administrar un purgante, con el fin de aumentar la posibilidad del hallazgo de parásitos. Será un purgante salino, como sulfato de sodio o fosfato y carbonato de sodio; no deben usarse aceites minerales o compuestos de bismuto o magnesio, ya que las gotas o cristales procedentes de ellos pueden enmascarar los parásitos o confundirse con trofozoitos.
- Con una cucharilla o espátula se recogerá una pequeña cantidad de heces recién emitidas y se enviará en un recipiente estéril con cierre hermético y solución conservante.
- Cuando macroscópicamente se hayan visto formas compatibles con parásitos en el ano o en las heces, se recogerán en un recipiente y se añadirá una pequeña cantidad de suero fisiológico.

### **C. Número de muestras y/o volumen**

- Un estudio parasitológico completo debe constar de tres muestras recogidas en días sucesivos, ya que la expulsión de parásitos puede ser intermitente.
- Es suficiente un volumen de heces similar a una cucharada de café (2-4g).

### **D. Transporte y conservación**

- Si las muestras van a tardar un poco en ser examinadas deberán ser mantenidas a temperatura ambiente o ligeramente frescas, nunca en estufa o nevera, a cuya temperatura se destruyen muchos parásitos.
- Si el retraso va a ser grande, para preservar huevos, larvas o quistes, se deben mezclar las heces con alguna solución preservante para evitar su destrucción:
  - Se mezcla un volumen de la muestra con tres de solución preservante.
- En el caso de gusanos adultos o anillos de tenias, el envío debe hacerse previa separación de las heces en solución fisiológica.

### **E. Investigación de Oxiuros, Test de Graham**

- En la parasitación por *Enterobius* no se buscarán los huevos en las heces sino en los márgenes del ano, que es donde la hembra va a depositarlos. Para obtener la muestra se debe:
  - Por la mañana, antes de levantarse.
  - Un trozo de celofán (22 x 22mm), montado en la extremidad de un depresor de lengua con la cara que pega hacía fuera y mantenido en posición por los dedos.
  - Se separan las nalgas y se hace presión en ambos márgenes del ano con el celofán, para que en la cara engomada queden adheridos los huevos.
  - Luego este se extiende bien, pegándolo, sobre la superficie de un portaobjetos (Fig. 5, 6, 7 y 8).

## **F. Investigación de amebas intestinales**

- La observación de las heces requerirá que éstas sean siempre muy recientes, por lo que el envío debe ser inmediato.
- En caso de abscesos de posible etiología amebiana, se aspirarán con jeringa y aguja, siguiendo para la toma las instrucciones del apartado correspondiente. Se recomienda extraer dos muestras, correspondiendo la última a la pared del absceso. Envío inmediato al laboratorio.

### **18.4.2. PARASITOS EXTRAINTESTINALES**

#### **18.4.2.1. PARASITOS UROGENITALES**

##### **18.4.2.1.1. TRICHOMONIASIS**

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

##### **18.4.2.1.2. OXIUROSIS VAGINAL**

- Suele ser una complicación de la parasitación intestinal, por lo que deben investigarse los huevos en vulva y ano conjuntamente.
- Investigación de oxiuros en vulva: con un papel de celofán montado como ya señalábamos anteriormente (Test de Graham), se pegará varias veces sobre los labios menores y el itroíto vulvar. Montar sobre portaobjetos como se indica anteriormente.
- Investigación de oxiuros en ano: debe acompañar a la técnica anterior cuando se sospeche una oxiurosis vaginal.

#### **18.4.2.2. PARASITOS VESICALES**

##### **18.4.2.2.1. ESQUISTOSOMIASIS**

- Son muestras adecuadas: orina y/o biopsia de la mucosa vesical.

- **Orina:** enviar la orina de 24 horas sin conservantes. También puede servir la micción aislada recogiendo la porción final de la misma tras realizar un esfuerzo moderado (subir escaleras, etc.) o tras masaje prostático.
- **Biopsia de la mucosa vesical:** la tomará un especialista por citoscopia. El material obtenido se enviará inmediatamente al laboratorio dentro de un recipiente estéril con una pequeña cantidad de suero salino.

#### 18.4.2.2.2. FILARIASIS (*Wuchereria bancrofti*)

- **Recoger 10-20ml de orina en un recipiente estéril y enviarlo inmediatamente al laboratorio.**

#### 18.4.2.3. PARASITOS EN SANGRE Y TEJIDO

##### 18.4.2.3.1. PALUDISMO

###### A. Material necesario

- Portaobjetos limpios conservados en alcohol o una mezcla de alcohol-éter.
- Lancetas estériles desechables.
- Gasas estériles.
- Alcohol de 70%
- Tubo de 5ml para suero con anticoagulante (preferentemente EDTA o Citrato).
- Agujas y jeringas.

###### B. Obtención de la muestra

- **Punción digital:** desinfectar la superficie del dedo con una gasa humedecida en alcohol. Pinchar con una lanceta estéril. La primera gota de sangre se limpiará con algodón y las gotas siguientes se recogerán sobre varios portaobjetos para hacer extensiones.
- **Punción venosa:** extraer 5ml de sangre en un tubo estéril con anticoagulantes.
- **Extensiones finas:** la técnica es similar a la utilizada en hematología. Se colocará una gota de sangre en un portaobjetos y con la ayuda del borde de otro se extenderá hasta formar una película fina. La extensión debe tener al menos 2cm.

- **Gota gruesa:** poner una gota grande de sangre en el centro de un portaobjetos limpio. Con la esquina de otro portaobjetos se irá extendiendo la sangre con un movimiento de rotación, hasta obtener un tamaño aproximado de una moneda. Dejar secar y enviar al laboratorio.

#### C. Número de muestras y/o volumen

- **En el período febril:** enviar tres extensiones finas y una gota gruesa.
- **En período afebril:** enviar una extensión de gota gruesa y 5 ml de sangre en un tubo con anticoagulante.
- **Momento de la extracción:** en el período febril cualquier momento es bueno. Deben empezar a obtenerse las muestras tan pronto como se sospeche esta enfermedad y enviarse inmediatamente al laboratorio.

#### 18.4.2.3.2. FILARIASIS EN SANGRE

Para la investigación de microfilarias de *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Dipetalenema pertans* y *Mansonella ozzardi*. Son muestras adecuadas para su estudio:

- **Punción digital:** deberá realizarse en el laboratorio, ya que requiere su estudio inmediato. Se recogerán 2-3 gotas sobre un portaobjetos para su examen en fresco. Las primeras gotas son las más ricas en el caso de las microfilarias linfáticas.
- **Punción venosa:** recoger 5ml de sangre en un tubo con anticoagulante (preferentemente EDTA o Citrato). La muestra debe enviarse de inmediato al laboratorio. En caso de demora se den conservar en frigorífico a +4°C.
- Algunas microfilarias tienen una periodicidad nocturna, por lo que se recomienda realizar dos extracciones, una a medio día y otra a media noche.

#### 18.4.2.3.3. FILARIAS EN TEJIDOS

Son muestras adecuadas para su investigación el tejido subepidérmico, biopsia dermoepidérmica y las biopsias ganglionares.

- **Biopsia subepidérmica:** la muestra ideal es una biopsia sin sangre de la zona que queda inmediatamente por debajo de la epidermis hasta las papilas dérmicas. La forma de obtener la muestra es haciendo escarificaciones poco profundas con una hoja de afeitar o de bisturí. Debe enviarse al laboratorio inmediatamente en 0.2ml de suero fisiológico. Otra forma sencilla de recoger la muestra es la siguiente: con

una aguja fina se introducirá muy superficialmente y se levantará un poco la piel, con ayuda de una hoja de afeitar o de un bisturí se cortará justo por debajo de la aguja, obteniéndose pequeños fragmentos de piel, que deben enviarse inmediatamente al laboratorio con 0.2ml de suero fisiológico. Las zonas preferibles son: región glútea, escápula y pantorrilla.

- **Biopsia dermoepidérmica:** con un bisturí, cortar un pliegue cutáneo o un cono de piel. Enviar la muestra inmediatamente al laboratorio en un tubo con 0.2ml de suero fisiológico.
- **Biopsia ganglionar:** obtención quirúrgica siguiente una técnica séptica. La muestra debe ser enviada inmediatamente al laboratorio en un recipiente estéril.

#### 18.4.2.3.4. TRIPANOSOMIASIS

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

- **Sangre periférica:** obtener sangre sin anticoagulantes por punción digital o venosa preparando las siguientes extensiones:
  - Dos extensiones finas (igual técnica que para el paludismo)
  - Una extensión de gota gruesa (igual técnica que para el paludismo)
  - Obtener 5 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante para cultivo. Esta muestra debe ser enviada inmediatamente al laboratorio (para evitar la coagulación de la misma).
  - Las muestras de sangre son útiles en la fase aguda tanto en las tripanosomiasis americana como africana.
- **Biopsia o aspirado ganglionar:** obtención de la muestra por punción aspiración de la piel previamente desinfectada, o por biopsia ganglionar. La muestra debe enviarse inmediatamente al laboratorio en un recipiente estéril. Las muestras más adecuadas son los ganglios cervicales que se encuentran hipertrofiados o excesivamente reducidos.
- **Médula ósea:** obtener un aspirado y enviarlo inmediatamente al laboratorio en la misma jeringa o en un tubo estéril. Esta muestra es útil en la fase aguda.
- **LCR:** recoger asépticamente la máxima cantidad posible de LCR y enviarlo inmediatamente al laboratorio en un tubo estéril. Esta muestra es útil en fases tardías de la Tripanosomiasis africana (*T. gambiense* y *T. rhodesiense*).
- **Chancro de inoculación:** la muestra se obtendrá por escarificación del chancro, muestra subepidérmica (igual que para microfilarias). Envío inmediato al laboratorio en un tubo con 0.2ml de suero fisiológico estéril. Esta muestra es útil en fases tempranas de *T. cruzi*.

#### **18.4.2.3.5. LEISHMASIASIS**

- **Leishmaniasis cutánea:** introducir suero fisiológico estéril con jeringa y aguja por debajo del lecho de la úlcera inyectando y absorbiendo varias veces para desbridar el tejido. Recoger el material obtenido en la jeringa y enviarlo inmediatamente al laboratorio. Cuando se dispone de brocas dentales estériles es preferible utilizar la técnica de Griffitt y Dutz, introduciendo la broca por debajo de la lesión. Envío inmediato al laboratorio en un tubo con 0.2ml de suero fisiológico estéril.
- **Leishmaniasis mucocutánea:** realizar biopsia de la piel asépticamente y enviarla inmediatamente al laboratorio.
- **Leishmaniasis visceral (Kala-azar):** son muestras adecuadas para examen microscópico y/o cultivo:
  - **Biopsia esplénica:** la más rentable.
  - **Biopsia de médula ósea.**
  - **Biopsia hepática.**
  - **Biopsia ganglionar.**Envío inmediato al laboratorio.
- **Diagnóstico serológico:** enviar de 5-10ml de sangre en un tubo estéril sin anticoagulantes. La serología es útil en la leishmaniasis mucocutánea y visceral.

#### **18.4.2.3.6. TOXOPLASMOSIS**

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

#### **18.4.2.3.7. TRIQUINOSIS**

- **Biopsia muscular:** preferentemente de músculo deltoides. Enviar rápidamente al laboratorio.

#### **18.4.2.4. PARASITOS PULMONARES**

##### **18.4.2.4.1. QUISTE HIDATIDICO**

- **Diagnóstico serológico:** enviar de 5-10ml de sangre en un tubo estéril sin anticoagulantes.
- **Aspiración del quiste:** solo debe hacer “in vitro”, sobre quistes extraídos mediante cirugía. Recoger el barro hidatídico (arenilla) y envío inmediato al laboratorio.

##### **18.4.2.4.2. DUELAS RESPIRATORIAS Y LARVAS DE NEMATODOS**

*Paragonimus westermani*, larvas de *Ascaris*, *Strongyloides stercoralis*, *Uncinarias*.

- **Espito:** el primer esputo de la mañana obtenido por expectoración.

## 19. OTRAS INVESTIGACIONES EN SUERO, LCR Y PLASMA

### A. Indicaciones

- Serología microbiana
- Amplificación genética (PCR)

### B. Material necesario

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

### C. Obtención de la muestra

- Localizar por palpación la vena que se va a puncionar. Debe utilizarse una vena distinta para cada extracción. Cuando no haya venas accesibles puede realizarse la extracción de sangre arterial.
- Desinfectar con alcohol etílico o isopropílico al 70% una zona de piel de unos 10 cm de diámetro. Se comenzará por el centro y se irán haciendo círculos concéntricos hacia el exterior. Dejar que se seque durante un mínimo de 30 segundos.
- Repetir el paso anterior aplicando una solución yodada, dejándolo secar durante 30 segundos si se trata de tintura de yodo al 1-2% y durante 60 segundos si se utiliza povidona yodada al 10%.
- En pacientes alérgicos al yodo, repetir la operación utilizando alcohol al 70% y dejándolo secar durante 60 segundos.
- Extraer la sangre sin tocar en ningún momento el campo desinfectado. Si fuera necesario palpar nuevamente la vena se utilizarán guantes de goma estériles o se desinfectarán los dedos de la misma manera que la piel del paciente. Si se requiere una segunda venopunción deberá cambiarse la aguja.
- Se utilizarán los tubos apropiados para cada caso:
  - Carga Viral de VIH: tubos estériles para extracción de plasma
  - Resto pruebas: tubos estériles sin conservantes ni anticoagulantes.

### D. Número de muestras y/o volumen

- Recoger entre 8 – 10ml de sangre.
- En niños recoger entre 3 – 5ml de sangre.

- **En Recién Nacidos y lactantes, si no es posible la venopuntura, hacer extracción capilar, en este caso el volumen mínimo será de 0.5ml.**
- **En la mayoría de los casos para diagnóstico serológico se precisan dos muestras tomadas la primera al inicio del cuadro infeccioso y la segunda a los 20 días del comienzo del mismo.**

**E. Transporte y conservación**

- **Mantener a temperatura ambiente para favorecer la coagulación hasta su envío al laboratorio.**
- **En muestras de plasma para estudio de Carga Viral de VIH se debe enviar la muestra inmediatamente al laboratorio.**

## LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DEL HOSPITAL GENERAL DE ALBACETE

### MUESTRAS PARA ESTUDIO DE PROSTATITIS

#### A. Material necesario

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

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

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

#### C. Número de muestras y/o volumen

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

#### D. Transporte y conservación

- Las muestras deberán procesarse < 1 hora.
- Para períodos mas prolongados las orinas se conservarán en medios de transporte para orinas o refrigeradas a +4°C y el fluido prostático/semen se conservará en nevera a + 4°C durante un período máximo de 24 horas.

#### E. Observaciones

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

