



ANEXO V
Servicio de Microbiología

ÍNDICE

- RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS. NORMAS GENERALES
 - Normas generales
- RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS. BACTERIOLOGÍA Y MICOLOGÍA
 - Anaerobios
 - Catéteres
 - Heces
 - Hemocultivo
 - Líquidos orgánicos
 - Médulas ósea
 - Micobacterias
 - Muestras genitales
 - Muestras oculares
 - Muestras óticas
 - Muestras respiratorias
 - Orina. Urinocultivo
 - Piel y tejidos blandos
 - Biopsias y necrópsias
 - Muestras osteoarticulares
 - Antígenos bacterianos
 - Micosis
- RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS. PARASITOLOGÍA
- RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS. VIROLOGÍA

RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS

NORMAS GENERALES

- La muestra ha de ser representativa del tejido infectado
- Ha de recogerse en cantidad suficiente
- No ha de estar contaminada por flora comensal
- Obtenida por punción, si es posible
- Se ha de remitir al laboratorio inmediatamente
- La petición se ha de hacer correctamente y debe proporcionar información clínica si es necesaria para su procesamiento

RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS. BACTERIOLOGÍA Y MICOLOGÍA

Anaerobios

Obtención de la muestra

Aspiración con jeringa. Biopsias o piezas histológicas. Las muestras tomadas con escobillón (con medio de transporte) tienen un menor rendimiento y en ellas no se realiza cultivo anaerobio de rutina.

Tipos de muestra

Intraabdominales (abscesos, pus peritoneal, etc.), cutáneas o subcutáneas (abscesos, celulitis, heridas profundas, etc.), genitales femeninas (placenta, líquido amniótico, aspirado endometrial, pus tubo-ovárico, etc.) y abscesos de otras localizaciones (pulmonares, cerebrales, ORL, etc.)

Transporte

Transportar inmediatamente al laboratorio para su procesamiento. En muestras líquidas (aspirados de pus, exudados o líquidos orgánicos) es posible inocular la muestra en frascos de hemocultivo, mínimo 3 mL por frasco, utilizando preferentemente el de anaerobios; si el volumen es inferior se puede utilizar un frasco de hemocultivo pediátrico.

Muestras inadecuadas

En general, las procedentes de zonas donde los anaerobios son flora habitual (faringe, esputo, vagina, heces) y escobillones sin medio de transporte.

Catéteres

Obtención de la muestra

Desinfectar la zona cercana al catéter y retirarlo con la máxima asepsia. Cortar el fragmento intravascular (4-5 cm) con material estéril e introducirlo en un recipiente estéril.

Transporte

Llevar la muestra al laboratorio en menos de 30 minutos o guardarla en nevera.

Heces

Coprocultivo. Obtención de la muestra

Recoger una muestra como mínimo de 1-2 gr o del tamaño de una nuez. Si la muestra es líquida remitir 5-10 mL. Se recogerá en un recipiente estéril con tapón de rosca. La muestra debe ser reciente (menos de 2 h) y no es aconsejable guardarla en nevera ya que la disminución del pH puede afectar algunas bacterias patógenas. Especificar la edad del paciente si es menor de 1 año. Informar del país al que se ha viajado si se trata de una diarrea del viajero. Solicitar explícitamente la investigación de toxina de *C. difficile*.

Escobillón. Obtención de la muestra

Indicado en aquellos casos en que no se pueda disponer de heces (neonatos, adultos debilitados). Es útil para el aislamiento de *N. gonorrhoeae*, *Campylobacter* spp, *Shigella* spp, *C. difficile*, VHS y portadores anales de *S. pyogenes*, *S. agalactiae*.

Parásitos

Ver Parasitología.

Hemocultivo

Método

El laboratorio procesa los hemocultivos mediante el Sistema BD Bactec FX para el cual se utilizan los siguientes frascos o viales: Bactec Plus Aerobic/F; Bactec Plus Anaerobic/F; Bactec Standard 10 Aerobic/F; Bactec Lytic/10 Anaerobic/F; Bactec Mycosis IC y el vial pediátrico Bactec Peds Plus/F.

Definición de hemocultivo:

Es el cultivo de sangre realizado a partir de una extracción sanguínea y la inoculación de la misma en un frasco para microorganismos anaerobios y otro para anaerobios y/o hongos.

Obtención de la muestra

Lavado higiénico de las manos. Preparar los viales de los hemocultivos a utilizar, quitando la lengüeta de los mismos y desinfectando la superficie del tapón de goma con alcohol etílico o isopropílico de 70°. Palpar e identificar la vena a puncionar. Colocarse guantes limpios. Después de palpar la zona de venopunción limpiarla con alcohol de 70o dejándola secar. A continuación desinfectar la zona de venopunción mediante solución alcohólica de Chlorhexidina o derivado yodado como tintura de yodo al 2% dejándola actuar durante 30 segundos o povidona yodada al 10% durante 1 minuto. En caso de alergia al yodo, desinfectar dos veces con alcohol. La chlorhexidina no se debe aplicar a niños de menos de 2 meses. Ponerse guantes estériles y evitar tocar el lugar de venopunción, así como hablar o toser mientras se realiza la extracción. Extraer 16-20 mL de sangre e inocular la mitad en un frasco anaerobio y la otra en un frasco aerobio. Si adicionalmente se utiliza un frasco para hongos se inocularán idealmente de 8-10 mL de sangre. En niños extraer 1-3 mL e inocular en un frasco pediátrico.

Importante

Habitualmente se realizan dos hemocultivos a partir de venopunciones practicadas en zonas anatómicas diferentes y siempre antes de iniciar el tratamiento con antibióticos.

Si un paciente recibe tratamiento antimicrobiano emplear frascos o viales con resinas y efectuar las extracciones sanguíneas, preferiblemente, justo antes de administrar la siguiente dosis del antimicrobiano.

Cuando exista una sospecha de endocarditis aguda o subaguda, obtener tres muestras por venopunción en tres lugares diferentes y separadas por 30-60 minutos.

Se puede extraer la sangre de un catéter venoso o arterial si se sospecha una bacteriemia por catéter o no existe otra posibilidad. En estos casos rotular el vial, sin tapar el código de barras, con una "C", que indica muestra obtenida a través de catéter.

Los viales inoculados deben ir perfectamente identificados con el nombre del paciente y la fecha, rotulando en el propio vial o mediante una etiqueta del paciente teniendo en cuenta que no afecte el código de barras del vial o que la etiqueta no afecte la base del vial.

Cada hemocultivo debe colocarse junto con su petición en una bolsa de plástico y remitido al laboratorio lo antes posible (preferiblemente antes de dos horas). Si no es posible dejarlo a temperatura ambiente (nunca en nevera).

Debe comunicarse al laboratorio cuando exista sospecha de endocarditis o infección por microorganismos de crecimiento lento (*Bruceella*, hongos, grupo HACEK).

Líquidos Orgánicos

Líquido ceforraquídeo (LCR)

Obtención de la muestra

Recoger el LCR en un tubo estéril destinado exclusivamente al laboratorio de Microbiología. El rendimiento de las pruebas solicitadas mejora cuanto mayor sea el volumen remitido.

Transporte

Remitir el LCR al laboratorio inmediatamente. Si no es posible, guardar la muestra a temperatura ambiente, nunca en nevera.

Líquido ascítico, peritoneal (colección intraabdominal), pleural, articular, pericárdico, bilis, etc.

Obtención de la muestra

Extraer un volumen de 1-5 mL de forma aséptica.

Transporte

Emplear tubos o recipientes estériles. Si se sospechan anaerobios transportar inmediatamente al laboratorio o inocular la muestra en frascos de hemocultivo.

Observaciones

Si el volumen de muestra es suficiente, mínimo 3 mL por frasco, es posible inocular la muestra en **frascos de hemocultivo**, utilizando preferentemente el de anaerobios; si el volumen es inferior se puede utilizar un frasco de hemocultivo pediátrico. En este caso, la tinción de Gram urgente sólo se podrá realizar si se remite una parte de la muestra en un tubo estéril.

Médula ósea

Aspirado

Remitir, si es posible, un volumen superior a 1 mL. Recogerla en un tubo con anticoagulante (EDTA). Remitirla rápidamente al laboratorio: si no fuera posible guardarla a temperatura ambiente. Ver los apartados de Micobacterias y Parasitología

Micobacterias

En el diagnóstico de la tuberculosis y de las restantes micobacteriosis se utilizan tres tipos de pruebas: baciloscopia, cultivo y amplificación génica de *Mycobacterium tuberculosis complex*. Las dos primeras están indicadas ante la sospecha clínica de estas infecciones o cuando es necesario descartarlas. La baja sensibilidad de la baciloscopia obliga a realizar siempre el cultivo. Una baciloscopia aislada sólo está justificada para monitorizar la negativización en las secreciones respiratorias durante la fase inicial del tratamiento. La amplificación génica está indicada cuando el grado de sospecha de tuberculosis es elevado o moderadamente elevado.

Obtención de la muestra

Emplear siempre recipientes estériles y no añadir sustancias conservantes ni antisépticas (salvo excepciones). Remitir la muestra al laboratorio o conservarla en nevera (4°C) excepto sangre y LCR (Tª ambiente). Para la amplificación génica de *Mycobacterium tuberculosis complex* pueden utilizarse también muestras de tejido conservadas en parafina cuando no estén disponibles en fresco o congeladas.

DetECCIÓN DE MICOBACTERIOSIS DISSEMINADA

- > Sangre. Para el cultivo remitir 7-10 mL de sangre en un tubo con heparina o EDTA. No son practicables la baciloscopia ni la amplificación génica de *M. tuberculosis complex*.
- > Médula ósea. Es poco rentable efectuar extensiones directamente de la muestra para baciloscopia y además, disminuye el volumen destinado al cultivo. Es probable que en infecciones por *M. tuberculosis* y *M. kansasii* el rendimiento sea superior al del cultivo de sangre, mientras que es equivalente en las infecciones por el complejo MAI.
- > Volumen y condiciones: para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* remitir 0.5-1 mL en un tubo con anticoagulante (heparina o EDTA). Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación.
- > Heces. Seguir las recomendaciones comentadas para el cultivo bacteriano. La detección de micobacterias en heces no siempre es indicativo de micobacteriosis diseminada. La amplificación génica de *M. tuberculosis complex* no es practicable debido a la presencia de sustancias inhibitoras de la prueba en la muestra.

DETECCIÓN DE MICOBACTERIOSIS DE LOCALIZACIÓN PULMONAR

- > Esputo. Se obtiene mayor rendimiento si se remiten tres muestras de buena calidad recogidas de manera seriada en días diferentes y preferiblemente de la primera expectoración de la mañana. Más de tres muestras seriadas no aumentan el rendimiento diagnóstico. Para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* remitir un volumen de 5-10 ml. de secreción de origen bronquial con mínima proporción de saliva. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación.
- > Jugo gástrico. Debe obtenerse tras 8 horas de ayuno. Alternativa al esputo en niños y personas con difi cultad para expectorar. Para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* remitir un volumen de 5 ml. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación. El pH del ácido gástrico puede afectar la viabilidad de las micobacterias por lo que se aconseja transportar la muestra al laboratorio lo más rápidamente posible (<2 h). Seguir los mismos criterios que en el esputo para las muestras seriadas.
- > Secreciones obtenidas por fibrobroncoscopio. Broncoaspirado o lavado broncoalveolar. Para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* remitir un volumen de 5-10 ml. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación. Remitir de manera análoga a la referida para el cultivo bacteriológico.
- > Líquido pleural. Recoger en condiciones estériles en un recipiente sin aditivos. Para evitar la coagulación puede utilizarse heparina. Para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* remitir un volumen mínimo de 10 ml. (volumen adecuado: 50-100 ml). Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación.
- > Biopsia pleural. Remitir el máximo posible de muestra en un recipiente estéril con unas gotas de suero fisiológico. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación. Rendimiento superior al del líquido pleural.

Detección de micobacteriosis ganglionar

- > Exudado ganglionar. Si se obtiene por punción, remitir 0.5-1 mL de muestra para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex*. Introducir la muestra en un tubo estéril sin aditivos ni anticoagulantes. Si la muestra es espesa puede lavarse la jeringuilla con 1ml de agua destilada estéril. No es adecuado enviar la jeringuilla con aguja. Si la muestra se obtiene de una adenopatía fistulizada, es preferible aspirar material del trayecto de la fístula con jeringuilla que utilizar un escobillón. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación.
- > Biopsia ganglionar. Remitir un volumen mínimo de 0,3-0,5 gr. de muestra para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex*. Introducir la muestra en un recipiente estéril únicamente con algunas gotas de agua destilada estéril para evitar la desecación. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación.

Detección de micobacteriosis de origen genitourinario

- > Orina. Recogerla de forma estéril. Primera orina de la mañana. Para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* remitir un volumen de 50 a 100 ml. Cursar tres muestras seriadas y de días diferentes. No es adecuado el cultivo de orina de 24 h. Remitir la muestra al laboratorio lo más rápidamente posible (antes de 2-3 h) para evitar la afectación de las micobacterias por el pH de la orina. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación.
- > Sangre menstrual. Preferible la recogida los primeros días de la menstruación. Muestra poco rentable, es preferible la biopsia de endometrio. La amplificación génica de *M. tuberculosis complex* no es practicable debido a la presencia de sustancias inhibitoras de la prueba en la muestra.
- > Biopsias de endometrio (cara anterior, posterior, cérvix). Remitir el máximo posible de muestra en un recipiente estéril y unas gotas de suero fisiológico. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación.
- > Esperma. Recoger en un recipiente estéril. Para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* remitir un volumen de 1-2 ml. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación.

Detección de micobacteriosis meníngea

- > LCR. Recoger en un recipiente estéril. Para baciloscopia y cultivo y/o para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* remitir un volumen mínimo de 1 ml. Para amplificación génica de *M. tuberculosis complex* también puede ser adecuado 1 mL de muestra pretratada con el proceso de descontaminación. El rendimiento de la baciloscopia es muy bajo.

Otras muestras

- > Otros líquidos biológicos. (L. articular, ascítico, pericárdico, otros). Ver condiciones en L. pleural.
- > Muestras obtenidas con escobillón. Para baciloscopia y cultivo emplear escobillones con medio de transporte y remitir todo el material que sea posible. Por las características de la obtención, la muestra suele ser escasa, por lo que se

considera un método poco rentable y debe limitarse a situaciones en que no exista alternativa. No es una muestra recomendable para la amplificación génica de *M. tuberculosis complex*.

- > Muestras obtenidas por biopsia. Seguir los mismos criterios que en la biopsia ganglionar.
- > Muestras de biopsia o tejidos en parafina. Estarán indicadas en casos de elevada sospecha de tuberculosis o micobacteriosis cuando no estén disponibles muestras frescas o congeladas. Remitir 5-10 cortes de 0,5-1 micra de grosor, distribuidos en 2-3 microtubos.

Muestras genitales

Obtención de la muestra:

- > Vagina
Recoger la muestra de la zona con más exudado o del fondo de saco vaginal posterior.
- > Endocérnix.
Limpiar previamente las secreciones vaginales del endocérnix. Asegurarse que el escobillón sólo entra en contacto con el endocérnix.
- > Uretra
Recoger la muestra como mínimo 2 horas después de haber orinado el paciente. En las mujeres limpiar cuidadosamente la mucosa circundante con gasas estériles. En los varones estimular la secreción exprimiendo la uretra. En ausencia de secreción introducir un escobillón en el interior de la uretra haciéndolo rodar suavemente.
- > Superficie genital externa (vulva o pene, úlceras genitales)
Limpiar el área lesionada con suero fisiológico estéril. Presionar la base de la lesión (con una gasa estéril) hasta que salga un líquido claro. Si se sospecha infección por Virus Herpes Simple, recoger la muestra con un escobillón seco (asegurándose que las vesículas se han roto) e introducirla en un medio de transporte de virus. Si se sospecha un chancro o úlcera por sífilis (*Treponema pallidum*), chancro blando (*Haemophilus ducreyi*) o linfogranuloma venéreo (*Chlamydia trachomatis* L1-L2-L3) recoger la muestra con un escobillón seco de plástico e introducir la parte terminal en un contenedor estéril.
- > Vagino-rectal
Para detectar *Streptococcus agalactiae*. Utilizar escobillón con medio de transporte, tomando la muestra primero de la vagina y luego del recto.
- > Recto
Utilizar un escobillón con medio de transporte (para cultivo de *Neisseria gonorrhoeae*) o un escobillón seco que se introducirá en medio de transporte de virus (para Virus Herpes Simple) o un escobillón seco grueso de plástico e introducir la parte terminal en un contenedor estéril (para PCR de clamidia, gonococo, LGV,...).
- > Próstata
Obtener la secreción prostática después del masaje y recogerla con un escobillón con medio de transporte o en un recipiente estéril. La eyaculación seminal no es aconsejable por la facilidad de contaminarse con microorganismos uretrales.
- > Faringe
En sospecha de *Neisseria gonorrhoeae* en faringe. Ver muestras respiratorias.

- > Gram vaginal
Para el estudio de vaginosis bacteriana. Recoger el exudado vaginal con un escobillón seco y extenderla en un portaobjetos (debidamente identificado). Dejar secar antes de remitirla en el interior de un contenedor estéril.
- > Placenta
Obtener la muestra de la cara fetal y la cara materna mediante sendos escobillones con medio de transporte (identificar ambos escobillones)
- > Líquido amniótico
Obtener la muestra mediante amniocentesis y trasportarla rápidamente al laboratorio. Si se desea cultivo de micoplasmas genitales, solicitar expresamente dicha prueba.
- > Aspirado endometrial
Aspirar la secreción endometrial mediante un catéter a través del endocérvix, previa limpieza del mismo. Si es necesario puede instilarse previamente suero fisiológico estéril.

Transporte

Algunos microorganismos necesitan medios de recogida o de transporte especiales (que deben solicitarse en el laboratorio de Microbiología)

- > *Chlamydia trachomatis* y otros microorganismos causantes de I.T.S. detectables por PCR (gonococo, *Treponema pallidum*,...): recoger la muestra con un escobillón seco de plástico estrecho (para uretra) o grueso (para endocérvix o recto) e introducir la parte terminal en un contenedor estéril. Frotar bien el interior de la uretra, el endocérvix o el recto para recoger células epiteliales.
- > *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma spp* (frasco con medio de transporte de micoplasmas genitales).
- > Virus Herpes Simple (tubo de medio de transporte de virus: ver Virología).

Muestras oculares

Obtención de la muestra:

- > Frotis conjuntival
Obtener la muestra antes de administrar analgésicos locales, colirios o antibióticos. Frotar la conjuntiva tarsal con un escobillón con medio de transporte.
- > Raspado conjuntival
Es recomendable emplear como anestésico local clorhidrato de propacaína (menor inhibición del crecimiento bacteriano). Es posible inocular la aguja del raspado en un frasco de hemocultivo pediátrico. Es preferible no realizar tinciones para aumentar el rendimiento del cultivo.
- > Raspado corneal
Obtener la muestra tras el raspado conjuntival y seguir las mismas recomendaciones. Es preferible sembrar las muestras en los medios facilitados por el laboratorio de Microbiología y no realizar tinciones para aumentar el rendimiento del cultivo.
- > Líquido intraocular (humor vítreo o humor acuoso)
Aspirar el contenido asépticamente y transportar inmediatamente al laboratorio, especialmente si se sospechan anaerobios. Es posible inocular la muestra en un frasco de hemocultivo pediátrico.

Muestras óticas

Obtención de la muestra:

- > Oído externo
Limpiar el conducto auditivo externo con un antiséptico (cloruro de benzalconio). Introducir un escobillón con medio de transporte y rotarlo. Si hay abscesos, aspirar el contenido con una jeringa y en caso de sospecha de anaerobios transportar inmediatamente al laboratorio de Microbiología.
- > Oído medio
Obtener la muestra por timpanocentesis. Si hay perforación timpánica puede emplearse un escobillón con medio de transporte.

Muestras respiratorias

Obtención de la muestra:

- > Frotis faringo-amigdalares
Con la ayuda de un depresor lingual tocar con un escobillón con medio de transporte los puntos con exudado, membranas o zonas inflamadas. Frotar las criptas tonsilares y la faringe posterior. No tocar la mucosa oral o la lengua.
- > Frotis o aspirado de nasofaringe
Introducir el escobillón con medio de transporte por la nariz hasta llegar a la nasofaringe, rotar y extraer. Se puede aspirar el moco con la ayuda de un tubo de teflón o una jeringa conectada a un catéter.
- > Observaciones
Si se sospecha *Bordetella pertussis* o *Corynebacterium diphtheriae*, remitir la muestra inmediatamente al laboratorio de Microbiología. Si se desea detectar *Neisseria meningitidis* o *Neisseria gonorrhoeae*, solicitar el cultivo selectivo para esos microorganismos.
- > Senos paranasales
Realizar una punción-aspiración. Si es necesario se puede instilar 1 mL de suero fisiológico estéril y aspirar de nuevo.
- > Cavidad oral
Indicada para detectar levaduras. Pedir al paciente que efectúe enjuagues con 40-50 mL de agua destilada o SF durante 1 minuto y recogerlo en un frasco estéril con tapón de rosca (muestra más aconsejable que el frotis)
- > Esputo
Limpiar la boca del paciente con SF o agua destilada. Obtener el esputo después de una expectoración profunda (2-10 mL de muestra) preferentemente matinal. Desechar las muestras que macroscópicamente correspondan a saliva. *Observaciones.* El esputo no es útil para el aislamiento de anaerobios. Sólo se cultivaran las muestras valorables según la clasificación de Murray y Washington (grado 4 y 5: 10-25 Cel epiteliales y >25 leucocitos por campo y <10 Cel epiteliales y >25 leucocitos por campo, respectivamente).
- > Jugo gástrico
Útil para determinados microorganismos (micobacterias, nocardias). Obtener la muestra por aspiración tras un ayuno de 8 horas.
- > Aspirado traqueobronquial
Valor similar al del esputo por la contaminación con flora orofaríngea.

- > Punción transtraqueal
Inocular parte de la muestra en medio de transporte para anaerobios. Transporte inmediato.
- > Broncoaspirado
Obtención de la muestra por fibrobroncoscopia.
- > Catéter telescopado
Emplear un catéter telescópico doble ocluído distalmente con cepillo protegido para evitar la contaminación por flora de las vías altas. Una vez extraído el cepillo, cortar el extremo distal (1,5-2 cm) e introducirlo en un tubo con tapón de rosca con 1 mL de SF estéril. Transporte inmediato.
- > Lavado broncoalveolar
El volumen mínimo de la muestra es de 10 mL.
- > Muestras obtenidas por abordaje percutáneo
Punción pulmonar aspirativa transtorácica, punción biopsica pulmonar, biopsia pulmonar con toracoscopio o por toracotomía. Se procesará la mayor cantidad de muestra posible. La muestra se depositará en un tubo estéril con SF si es necesario. Transporte inmediato.
- > Líquido pleural
Ver apartado de líquidos orgánicos.
- > Biopsia pleural
Remitir en un tubo estéril con SF si es necesario.

Orina. Urinocultivo

Obtención de la muestra

- > Mujeres
Lavar el vestíbulo vaginal con agua y jabón (nunca antisépticos) y secar. Separar los labios vulvares e iniciar la micción. Desechar el primer chorro y recoger en un recipiente estéril a excepción de las últimas gotas.
- > Varones
Lavar la zona del glande con agua y jabón y secar bien. Retirar la piel del prepucio y recoger la orina en un recipiente estéril desechando el primer chorro y las últimas gotas.
- > Transporte
Inmediato. Si no es posible, guardar en nevera (2-8°C) no más de 24 horas.
- > Observaciones
Recoger la orina de la primera hora de la mañana o 4 horas después de la última micción. Si la muestra se ha recogido con otros métodos (punción suprapúbica o sonda urinaria) hacer la petición correspondiente para su correcta valoración.

En pacientes sondados, esterilizar la zona de la sonda a puncionar, aspirar la orina con jeringa y depositarla en un recipiente estéril: nunca obtenerla de la bolsa de depósito.

No deben cultivarse las puntas de sonda urinaria por la contaminación con flora uretral.

Piel y tejidos blandos

Obtención de la muestra

- > Heridas cutáneas (quirúrgicas o traumáticas)
Lavar la zona y aspirar el exudado del estrato más profundo de la lesión con una jeringa (con aguja o catéter). Utilizar un escobillón con medio de transporte sólo si el procedimiento anterior es inviable.
- > Úlceras
Lavar y eliminar la suciedad superficial. Recoger la muestra con una jeringa (o con un escobillón con medio de transporte) de la base de la lesión.
- > Quemaduras
Es preferible la biopsia a los frotis, porque los cultivos de la superficie cutánea pueden resultar poco valorables por la flora presente. Si se utiliza un escobillón (con medio de transporte), lavar previamente la herida y tomar la muestra de varias zonas.
- > Mordeduras
Aspirar el pus de la herida infectada con una jeringa.
- > Abscesos o celulitis
Desinfectar la piel, puncionar el absceso o practicar desbridamiento quirúrgico y extraer la máxima cantidad posible de pus. El escobillón (con medio de transporte) es una muestra menos adecuada para recuperar anaerobios.
- > Trayectos fistulosos
Muestra poco valorable aunque se recoja en buenas condiciones por la contaminación frecuente con microorganismos no implicados en la patogenia del proceso. Aspirar el exudado de la porción profunda de la fístula.

Biopsias y necropsias

Obtención de la muestra

Introducir la pieza (de un tamaño máximo de 1 cm x 1 cm x 1 cm) en un contenedor estéril. No añadir NUNCA formol. Transportar rápidamente al laboratorio: si no es posible, conservar en nevera.

Muestras osteoarticulares

Obtención de la muestra

Obtener con la máxima asepsia las muestras osteoarticulares sólidas (biopsias) o líquidas (punción) y remitirlas en un tubo o contenedor estéril. También es posible introducir las muestras líquidas en frascos de hemocultivo y utilizar un escobillón con medio de transporte para las superficies óseas o articulares.

Antígenos bacterianos

Legionella pneumophila serogrupo 1 y *Streptococcus pneumoniae*. Orina

Micosis

Obtención de la muestra

Si es posible no administrar ningún producto antifúngico por vía general o tópica antes de la obtención de la muestra (48-72 h).

- > **Piel y escamas**
Limpiar piel y faneras con alcohol etílico o isopropílico al 70%. Raspar la zona activa de la lesión con un bisturí o un portaobjetos de bordes rectos y depositar las escamas en un recipiente con tapa. En lesiones de pitiriasis versicolor aplicar una cinta adhesiva transparente y adherirla a un portaobjetos.
- > **Cabello y pelo**
Escoger los cabellos y pelos infectados (luz de Wood) y estirar del folículo piloso.
- > **Micosis ungueales**
Cepillar las uñas con agua y jabón y secar. Cortar con tijeras fragmentos de uñas afectadas. Obtener las escamas introduciendo un bisturí en el lecho ungueal raspando suavemente. Depositar las muestras en un recipiente estéril. En caso de lesiones supurativas de perionixis, extraer el pus mediante presión y recogerlo con un escobillón.
- > **Exudados de mucosas**
Tomar la muestra raspando con un depresor lingual o escobillón. En afectación buco-faríngea, efectuar enjuagues (ver apartado en muestras respiratorias).
- > **Otras muestras (oftalmológicas, abscesos, respiratorias, hemocultivos, liq biológicos, biopsias)**
Proceder como en los apartados correspondientes de cultivo bacteriológico.

Transporte

Remitir las muestras en un recipiente estéril.

RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS. PARASITOLOGÍA

Heces

Es aconsejable realizar una dieta pobre en residuos alimentarios los tres días previos al estudio (sin patatas, verduras, legumbres, frutas, pasta, arroz, pan tostado no integral, huevos, hígado). No debe administrarse contraste de bario, aceites minerales, compuestos de magnesio y bismuto. Recoger una muestra en frasco estéril (100 mL) de tapón de rosca y enviar al laboratorio. Si macroscópicamente se observan formas compatibles con parásitos añadir una pequeña cantidad de SF. Deben remitirse 3 muestras recogidas en 3 días consecutivos. Conservar en nevera.

Transporte

Lo más rápidamente posible, inmediato si se sospechan amebas, conservar a temperatura ambiente, nunca en nevera.

Observaciones

Cinta Graham (Oxiurus). Por la mañana, antes de lavarse, aplicar una cinta adhesiva transparente en el esfínter anal. Pegar la cinta a un portaobjetos y remitirla al laboratorio.

Muestras digestivas altas

Efectuar un aspirado duodenal si se sospecha: *Giardia intestinalis*, *Strongyloides stercoralis* y *Ascaris lumbricoides*. Para *G. intestinalis* es necesario llegar hasta la tercera porción duodenal. Volumen de aspirado: 0.5 - 3 mL. Mantener la muestra a temperatura ambiente.

Trichomonas vaginalis

No realizar lavados vaginales ni tener relaciones sexuales los dos días previos a la obtención de la muestra. Recoger muestras de exudado (uretral o vaginal) de donde sea más abundante sin emplear lubricantes y transportar inmediatamente (menos de 15 minutos). Si la muestra es orina recogerá la primera de la mañana. En varones no orinar en 4-5h previas a la obtención de la muestra.

Esquistosomas

Orina: despreciar la primera orina de la mañana. Obtener 40 mL en frasco estéril después de realizar cierto ejercicio (subir y bajar escaleras)

Semen: remitirlo en frasco estéril inmediatamente.

Biopsia vesical: Enviar inmediatamente con unas gotas de SF.

Paludismo

Realizar 2 extensiones de sangre y 2 gotas gruesas en portaobjetos (consultar con el L de Microbiología para su realización). 5 mL de sangre en tubo con anticoagulante (EDTA)

Filariasis

Filariasis sanguíneas: 3-5 mL de sangre en un tubo con anticoagulante (EDTA).

Filariasis cutáneas: biopsia cutánea. Contactar con el L. Microbiología

RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS. VIROLOGÍA

Consideraciones generales:

- La toma de muestras debe realizarse en los 5-7 primeros días de la aparición de los síntomas.
- Las torundas utilizadas para la recogida de muestras deben ser de algodón, dacrón ó rayón con bastón de plástico.
- Los frotis naso-faríngeos para estudio de virus respiratorios deben tener la mayor celularidad posible.
 - a. Frotis nasal: introducir la torunda estéril en la fosa nasal, de forma paralela al paladar, dejar unos segundos y retirar lentamente con movimientos de rotación. Utilizar la misma torunda para las dos fosas nasales.
 - b. Se realizará un escobillado de la faringe frotando a nivel de las amígdalas, recogándose células de descamación de la mucosa faríngea. No se debe recoger moco o saliva, ya que podrían contaminar la muestra.
- El medio de transporte utilizado para torundas y biopsias debe ser medio especial para virus (MTV).
- El envío de las muestras debe ser inmediato, de lo contrario se pueden guardar refrigeradas (2-8°C) el menor tiempo posible, nunca congelar.
- Todas las muestras se pueden guardar refrigeradas, excepto la sangre y la médula ósea, que deben mantenerse a temperatura ambiente.
- Todas las muestras de sangre utilizadas en técnicas moleculares deben llevar el anticoagulante EDTA.

Muestra	Envase	Virus	Técnica
Heces	Envase estéril	Adenovirus, Rotavirus, Norovirus	Inmunocromatografía, PCR
<u>Muestras respiratorias</u> Frotis nasal, faríngeo, BAL, lavado nasofaríngeo	Torundas + medio de transporte para virus Envase estéril	CMV (BAL) Virus respiratorios	Cultivo celular, detección de antígenos, técnicas moleculares
Lesiones cutáneas y mucosas (abscesos, úlceras, heridas)	Torundas + medio de transporte para virus	Herpes simple 1, 2 Varicela	Cultivo celular, técnicas moleculares
Biopsias, necropsias	Envase estéril + medio de transporte para virus	Herpesvirus*	Cultivo celular, técnicas moleculares
Líquidos estériles, orina	Envase estéril	Líquido cefalorraquídeo: Herpesvirus, Enterovirus, Poliomavirus Orina: Citomegalovirus, Poliomavirus y Adenovirus Líquido amniótico: Herpesvirus, Parvovirus B19	Técnicas moleculares
Médula ósea	Tubo con EDTA	Herpesvirus	Técnicas moleculares
Sangre	Tubo con EDTA	Herpesvirus, VIH, virus de la Hepatitis B y C, virus BK.	Técnicas moleculares
Sangre	Tubo con heparina	Citomegalovirus	Antigenemia por IFI

*Herpesvirus: virus herpes simple 1, 2, varicela, Epstein Barr, citomegalovirus, herpes 6.