

SOCIEDAD DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DE
CASTILLA LA MANCHA
(SOMICCAM)

**MANUAL DE RECOGIDA DE MUESTRAS
PARA DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO EN
ATENCIÓN HOSPITALARIA**

Coordinador: Daniel Tena Gómez

ISBN: 978-84-19994-29-5
D.L. AB 629-2023



**SOCIEDAD DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA
DE CASTILLA LA MANCHA
(SOMICCAM)**

**MANUAL
DE RECOGIDA DE MUESTRAS
PARA
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO
EN ATENCIÓN HOSPITALARIA**

Coordinador: Daniel Tena Gómez

Edición 2023

MANUAL DE RECOGIDA DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO EN ATENCIÓN HOSPITALARIA HOSPITALARIA

Edición: Primera Edición

Editores

Daniel Tena Gómez

Agustín Ortega Cerrato

Fotografía: Daniel Tena Gómez

La totalidad del material gráfico empleado en esta obra es original y los derechos de imagen han sido cedidos por los interesados.

Editorial: Fundación BIOTYC Impreso en España.

Los autores de esta obra han verificado toda la información con fuentes fiables para asegurarse de que esta sea completa y acorde con los estándares aceptados en el momento de la publicación. Los posibles errores humanos o de cambio en las ciencias médicas, ni los autores, ni la editorial, ni cualquier otra persona implicada en el desarrollo de esta obra, garantizan que la totalidad del material aquí contenido sea exacto o completo y no se responsabilizan de errores u omisiones que de ellos se pueda generar. El lector deberá tener especial cuidado en la lectura de los fármacos y situaciones clínicas sobre los que se advierte diversas pautas o que son objeto de polémica, las opiniones vertidas representan únicamente las de los autores, sin que se niegue validez a otras que pueden diferir de las mismas. Aconsejamos la consulta de textos especializados, publicaciones científicas periódicas y obras más extensas y detalladas cuando se quiera ampliar la información. Los editores han hecho todos los esfuerzos para localizar a los titulares del copyright del material utilizado por los autores. Si inadvertidamente hubieran omitido alguno, se harán los arreglos en la primera oportunidad que se les presente para tal fin.

Fotocopiar es un delito (art. 270 C.P.)

Este libro está legalmente protegido por los derechos de propiedad intelectual. Cualquier uso, fuera de los límites establecidos por la legislación vigente, sin el consentimiento del editor, es ilegal. Esto se aplica en especial a la fotocopia y en general a la reproducción en cualquier formato o soporte.

ISBN: 978-84-19994-29-5

Depósito legal: D.L. D.L. AB 629-2023

Los autores han revisado con especial atención las dosis y pautas de los tratamientos que se exponen en esta obra. Debe tenerse en cuenta que las presentaciones de los fármacos y las dosificaciones re-comendadas pueden cambiar con el tiempo. Recomendamos al lector utilizar de un modo juicioso la información terapéutica descrita en esta obra y siempre de acuerdo con aquella que se indica en los prospectos de los fabricantes de los productos que se mencionan y con la información referida en la bibliografía.

Autores

Daniel Tena Gómez

Sección de Microbiología.

Hospital General Universitario de Guadalajara.

Guadalajara.

Cristina Colmenarejo Serrano

Servicio de Microbiología.

Hospital General Universitario de Ciudad Real.

Ciudad Real.

M^a Paula Fernández Sarratea

Sección de Microbiología.

Hospital General Nuestra Señora del Prado.

Talavera de la Reina, Toledo.

Cristina Loras Gallego

Servicio de Microbiología.

Hospital General Universitario de Ciudad Real.

Ciudad Real.

Vega Zamora de la Fuente

Laboratorio de Microbiología.

Hospital General de Valdepeñas.

Valdepeñas (Ciudad Real).

Simón Voyer Conde

Sección de Microbiología.

Hospital General Universitario de Guadalajara.

Guadalajara.

ÍNDICE

1. SANGRE	6
1.1. Hemocultivo	6
1.2. Parásitos en sangre.....	12
2. MUESTRAS DEL TRACTO URINARIO	19
2.1. Orina (micción media).....	19
2.2. Orina en pacientes con sonda permanente.....	25
2.3. Orina en pacientes con prostatitis	27
3. MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR.....	30
3.1. Exudado oral.....	30
3.2. Exudado nasal.....	32
3.3. Exudado faringo-amigdalario	33
3.4. Aspirado y exudado nasofaríngeo	35
3.5. Exudado nasofaríngeo (SARS-CoV-2).....	37
4. MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR.....	40
4.1. Esputo	40
4.2. Aspirado traqueal.....	43
4.3. Broncoaspirado	46
4.4. Cepillado bronquial	48
4.5. Lavado broncoalveolar	54
4.6. Biopsia transbronquial	54
5. MUESTRAS DE OÍDO	55
5.1. Exudado ótico	55
6. MUESTRAS OCULARES.....	58
6.1. Exudado conjuntival	58
6.2. Raspado corneal.....	59
6.3. Humor acuoso.....	63
6.4. Humor vítreo.....	65
6.5. Muestras del aparato lagrimal.....	67
7. MUESTRAS DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS	69
7.1. Exantema	69
7.2. Escara.....	74
7.3. Absceso.....	78

7.4. Exudado de fístula	81
7.5. Exudado de herida	83
7.6. Exudado de úlcera vascular	87
8. MUESTRAS DE PIEL Y FANERAS	91
8.1. Pelo	91
8.2. Raspado cutáneo	95
8.3. Uña.....	97
9. MUESTRAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL.....	99
9.1. Heces.....	99
9.2. Test de Graham.....	104
9.3. Jugo gástrico	106
9.4. Aspirado gástrico y duodenal	107
9.5. Biopsia gástrica.....	109
10. MUESTRAS ABDOMINALES.....	109
10.1. Bilis.....	109
10.2. Líquido peritoneal.....	113
11. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO	118
11.1. Exudado endocervical.....	118
11.2. Exudado rectal/anal	119
11.3. Exudado uretral femenino.....	123
11.4. Exudado vaginal	126
11.5. Exudado vulvar.....	129
11.6. Úlcera genital.....	131
11.7. Endometrio	134
12. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO	137
12.1. Exudado rectal/anal	137
12.2. Exudado uretral masculino	139
10.3. Úlcera genital.....	141
10.4. Semen	144
13. LÍQUIDOS BIOLÓGICOS	148
13.1. Líquido articular	148
13.2. Líquido cefalorraquídeo (LCR)	149
13.3. Líquido ascítico	155
13.4. Líquido de diálisis peritoneal.....	158
13.5. Líquido pericárdico.....	159
13.6. Líquido pleural.....	163
13.7. Líquido amniótico.....	165

14. CATÉTERES Y DRENAJES.....	168
14.1. Punta de catéter.....	168
14.2. Orificio de salida de catéter o piel pericatóter	169
14.3. Drenaje.....	169
15. BIOPSIAS	172
15.1. Biopsia.....	172
15.2. Necropsia.....	174
16. MÉDULA ÓSEA.....	177
16.1. Médula ósea.....	177
17. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE PORTADORES	178
17.1. Frotis nasal, rectal, axilar y faríngeo	178
18. SANGRE PARA SEROLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR.....	179
18.1. Suero.....	179
18.2. Plasma.....	188
18.3. Sangre total	189
19. OTRAS MUESTRAS.....	193
19.1. Vesícula	193
19.2. Petequia.....	195
19.3. Pestaña	196
19.4. Leche materna.....	196

1. SANGRE

1.1. Hemocultivo

Muestra

- Sangre extraída e inoculada en botellas especiales para el diagnóstico de bacteriemia o candidemia.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un hemocultivo.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i> Otras enterobacterias (<i>Morganella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus viridans</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Nocardia</i> spp. <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Anaerobios
Hongos	<i>Candida</i> spp.	

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Un compresor elástico.
- Un paquete de gasas estériles.
- Guantes estériles.
- Antiséptico para la piel:
 - Clorhexidina al 0,5% en alcohol isopropílico al 70%.
 - En niños menores de 2 años: solución acuosa de clorhexidina al 2%.
- Jeringuilla de uso único de 20 mL de capacidad con la correspondiente aguja i.v. o sistema palomilla/vacutainer.
- Botellas de hemocultivos (comprobar caducidades, no utilizar frascos caducados, deteriorados o rotos):
 - En adultos y niños de más de 37 kg: dos viales, frascos aerobio y anaerobio, por extracción.
 - En niños de menos de 37 kg de peso: un vial pediátrico.

Técnica para obtener la muestra

- Lavarse las manos con jabón antiséptico.
- Etiquetar los viales a inocular (aerobio y anaerobio) o el vial pediátrico con los datos del paciente, y el número de extracción. No tapar el código de barras de la botella ni el fondo del frasco con pegatinas.
- Marcar en los frascos el volumen hasta donde se puede llegar.
- Quitar la tapa plástica del tapón.
- Desinfectar la superficie con clorhexidina al 0,5% en alcohol isopropílico al 70%.
- Utilizar guantes de un solo uso mientras se selecciona la vena del paciente y seguir utilizándolos hasta el final del procedimiento.

- Seleccionar dónde se va a realizar la extracción: cada extracción debe realizarse en diferentes lugares de venopunción.
- Desinfectar la zona con clorhexidina al 0,5% en alcohol isopropílico al 70%, dejar secar 30 segundos (en niños menores de 2 años: solución acuosa de clorhexidina al 2%). Limpiar enérgicamente desde el punto de punción hacia afuera al menos 5 cm y dejar secar.
- Realizar la extracción: si fuese necesario volver a palpar, debe volverse a desinfectar antes de realizar a extracción.
- Inocular en los frascos de hemocultivos previamente identificados los siguientes volúmenes:
 - 10 mL en cada frasco para adultos.
 - 1-3 mL en el caso de los hemocultivos pediátricos.
- Orden de inoculación de los frascos:
 - Si se utiliza jeringa de 20 mL, comenzar por el vial anaerobio, evitando la entrada de aire.
 - Si se utiliza sistema vacutainer, comenzar por el vial aerobio.
- Una vez inoculados, invertir suavemente los viales varias veces para evitar la coagulación de la sangre y favorecer la mezcla con el medio de cultivo.
- Despegar las etiquetas de códigos de barras de las botellas de hemocultivos y pegarlas en el volante, asegurándose de que quede ubicada en el lugar correspondiente de la localización de ese hemocultivo.
- Una vez realizadas todas las extracciones, enviar las botellas al laboratorio inmediatamente.

Extracción de hemocultivos a través de un catéter

- El hemocultivo extraído por catéter se acompañará de otro obtenido de vía periférica según normas de obtención convencionales, con la finalidad de determinar la diferencia de tiempo de positividad, dato que presenta utilidad en el diagnóstico de la bacteriemia relacionada con catéter. Es importante inocular el mismo volumen de muestra en los cuatro frascos para que la comparación sea correcta.
- El procedimiento será igual que en hemocultivos por venopunción, pero existen varios puntos a tener en cuenta:
 1. Indicar en los frascos la localización de la extracción: hemocultivo periférico o de venopunción, por catéter (tipo, color).
 2. Desinfectar la zona de conexión del catéter con alcohol al 70% o clorhexidina al 0,5% en alcohol isopropílico al 70%, limpiando durante 15 segundos. Dejar secar 30 segundos.
 3. Usando guantes estériles, desconectar el tubo o tapón del catéter y recoger con jeringa una cantidad de 3 mL que no se usará para cultivo.
 4. Usando una nueva jeringa se recogerá la sangre para cultivo. Rápidamente reconectar el tubo. Se inocularán 10 mL en el frasco de aerobios y 10 mL en el de anaerobios. Comenzar por el frasco de anaerobios evitando la entrada de aire.
 5. Colocar las etiquetas de las botellas en el volante de la petición asegurándose de que quede ubicada en su lugar correspondiente.

Volumen necesario de sangre.

Volumen necesario de sangre en función del frasco empleado		
Aproximarse a la cifra superior siempre que sea posible		
Viales convencionales para adultos y niños con peso superior a 37 kg		Vial pediátrico. Niños con peso inferior a 37 kg
Vial aerobio	Vial anaerobio	1-3 mL
8-10 mL	8-10 mL	

Número de muestras

- En pacientes adultos se obtendrán como mínimo 2 hemocultivos consecutivamente.
- En niños se obtendrá una botella pediátrica.

Momento de la obtención

- Antes de la administración de antibióticos.
- Si no es posible obtener los hemocultivos justo antes de la siguiente dosis de antibiótico, es recomendable obtenerlos inmediatamente después del comienzo de la fiebre y/u otros signos de sepsis.
- Se recomienda realizar siempre al menos dos hemocultivos de dos lugares de venopunción diferentes.
- No existe una recomendación universal sobre el **intervalo de tiempo** a respetar entre cada extracción. Por lo general, se aconseja que estén separadas 10-30 minutos, pero este intervalo se puede acortar en situaciones de extrema urgencia para no retrasar el tratamiento antibiótico.
- Pueden extraerse los hemocultivos simultáneamente de extremidades diferentes.

Transporte de las muestras

- Deben enviarse al laboratorio lo más rápidamente posible.
- Evitar usar el tubo neumático por riesgo de rotura de los frascos.

Conservación

- Cuando no sea posible enviar las muestras, mantenerlas a temperatura ambiente hasta su envío.
- Nunca refrigerar, congelar, o incubar en estufas no específicas.

Muestras inadecuadas

- De forma general no se rechazarán este tipo de muestras.
- Únicamente se rechazarán muestras NO identificadas, botellas rotas o caducadas.
- Es de gran importancia extremar las precauciones de asepsia.
- No tapar la etiqueta de código de barras de los frascos de hemocultivo con otras etiquetas o datos del paciente.
- Se considerarán muestras inadecuadas viales con volumen insuficiente.

Comentarios

- Cuando se sospeche la presencia de microorganismos de crecimiento lento o endocarditis se debe especificar en el volante de petición.
- Si no es posible retrasar la administración de antibióticos, se realizará la segunda extracción inmediatamente después de la primera, pero la punción se realizará en diferente localización.
- Si se solicita un hemocultivo a través de catéter se realizará la extracción a través de catéter inmediatamente después de la extracción periférica.

1.2. Parásitos en sangre

Introducción

- Las principales parasitosis hemotisulares son la leishmaniasis, las tripanosomiasis (enfermedad de Chagas y enfermedad del sueño), la malaria o paludismo y las infecciones por filarias.
- Estos parásitos podrán ser visualizados, así como cultivados o detectados mediante técnicas moleculares en sangre.
- A excepción de la leishmaniasis, estas parasitosis no son endémicas de España.
- Se debe hacer especial hincapié en los datos epidemiológicos que lo apoyen.
- Cada una de estos parásitos tiene sus peculiaridades y se dispone de diferentes técnicas para su diagnóstico en el laboratorio (ver tabla).
- Un resultado negativo no descarta necesariamente la infección.
- En los procesos agudos, si la sospecha clínica es alta, es recomendable la recogida de muestras de forma seriada en diferentes momentos en un mismo día o en la misma semana. En los procesos crónicos, es recomendable transcurridos 3-6 meses.

Principales parasitosis hemotisulares.

Parasitosis	Distribución geográfica	Tipo de muestra	Técnica de laboratorio
Leishmaniasis (<i>Leishmania spp.</i>)	Latinoamérica; cuenca Mediterránea; África Norte y Oriental; Oriente Medio; India, Nepal, Bangladesh y China	Sangre con EDTA	Tinción, TAAN, aglutinación
Enfermedad de Chagas (<i>Trypanosoma brucei</i>)	Latinoamérica	Sangre con EDTA	Tinción, cultivo, TAAN
		Suero	IC, EIA
Enfermedad del sueño (<i>Trypanosoma cruzi</i>)	África subsahariana (zonas rurales)	Sangre con EDTA	Fresco, gota gruesa, TAAN,
		Suero	EIA
Malaria (<i>Plasmodium spp.</i>)	Trópico de América, África y Asia	Sangre con EDTA	Tinción, gota gruesa, IC, TAAN
Wuchereria bancrofti (<i>media noche</i>)	Zona tropical y subtropical de Asia y África. Pacífico Occidental, Haití, República Dominicana, Guayana, Brasil	Sangre con EDTA	TAAN
		Sangre sin anticoagulante	Microscopía directa
Brugia spp. (<i>media noche</i>)	Este y sur de Asia, India, Indonesia, Malasia, Filipinas, Islas del Pacífico	Sangre con EDTA	TAAN
		Sangre sin anticoagulante	Microscopía directa
Mansonella spp. (<i>sin periodicidad</i>)	Latinoamérica y África	Sangre con EDTA	TAAN
		Sangre sin anticoagulante	Microscopía directa

Leishmaniasis

- La detección en sangre es de elección principalmente en caso de leishmaniasis visceral. Si esta no se detecta en sangre, será necesario recurrir a la obtención de médula ósea (tubo con EDTA). El diagnóstico indirecto por serología permite detectar la presencia de anticuerpos, principalmente en los casos de leishmaniasis visceral, pero su valor es limitado en el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea, mucocutánea y en la coinfección con VIH, ya que en estos casos no se produce una elevación en los niveles de anticuerpos como en la leishmaniasis visceral.

Malaria

- En España, los casos diagnosticados de malaria son principalmente importados:
 - Viajeros a zonas endémicas que no han tenido ningún contacto previo con malaria (con o sin profilaxis).
 - Inmigrantes procedentes de áreas endémicas.
 - Inmigrantes que tras un periodo de tiempo viviendo en Europa, regresan a sus países para visitar a sus familiares y amigos. Se denominan VFR (visiting friends and relatives). Estos pacientes habitualmente no toman profilaxis y la mayoría ha perdido el estado de semi-inmunidad, por lo que son un grupo de especial riesgo.
- La toma de profilaxis no excluye el diagnóstico de malaria, que en estos casos puede ocurrir tras periodos de incubación más largos y con una clínica más larvada. **Sea cual sea el grupo de población, se debe descartar esta enfermedad en cualquier persona con fiebre u otra clínica compatible que haya viajado o provenga de un área endémica para malaria**, pues un retraso en el diagnóstico y tratamiento se asocia con un aumento del riesgo de malaria grave.

Enfermedad de Chagas

- En España, la enfermedad de Chagas es predominantemente importada (95% desde Bolivia) y los casos autóctonos se han producido por transfusión de hemoderivados sanguíneos, transmisión vertical, trasplante de órganos y accidentes de laboratorio. La detección en turistas es anecdótica y está relacionada con estancias prolongadas en áreas de transmisión activa.
- Debido a la complejidad del propio parásito y de su interacción con la respuesta inmune del individuo infectado durante la evolución de la infección, ninguna prueba parasitológica ni serológica por si sola se considera *gold standard*. En una infección aguda, la elección más adecuada es la detección del parásito (PCR en sangre). Cuando la infección evoluciona a la cronicidad (reciente o tardía), la determinación de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi* ofrecerá más información. No obstante, para realizar el seguimiento de un paciente, con o sin tratamiento, es necesario llevar a cabo ambas determinaciones, detectar al parásito y determinar los niveles de anticuerpos.

Enfermedad del sueño

- En Europa, los casos importados se han descrito principalmente en Francia, Reino Unido y Bélgica. En España, el número de casos importados es considerablemente reducido. En caso de sospecha se puede realizar una serología, pero debido a la complejidad antigénica de este parásito la técnica de elección sería una PCR o bien la visualización directa por microscopía.

Filarias

- Se trata de varias especies de parásitos cuyos adultos se van a encontrar en tejidos, pero las larvas o filarias, pueden salir a sangre con o sin periodicidad. Se recomienda estudio en sangre

periférica, a ser posible capilar. Se pueden visualizar en el microscopio (fresco o gota gruesa), o bien, se pueden detectar mediante técnicas de biología molecular. Se debe tener en cuenta su periodicidad en sangre, y realizar la punción en función de ella para aumentar la sensibilidad.

Muestra para el estudio de parásitos en sangre

- Sangre completa.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Detección de ácidos nucleicos (PCR)
- Detección de antígenos.
- Visualización de parásitos.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Guantes.
- Compresor.
- Algodón o gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Sistema de toma de sangre para tubos de presión negativa (aguja palomilla y adaptador o cono); en su defecto, se recomienda jeringa y aguja estéril de punción intravenosa.
- Tubo con anticoagulante con cierre hermético de presión negativa.
- Existen comercializados tubos con tapones de distintos colores. Se deben utilizar los códigos de colores y los volúmenes específicos indicados en cada laboratorio de referencia.
- Etiquetas identificativas.

Técnica para obtener la muestra

- Utilizar guantes.
- Corroborar la identidad del paciente antes de la extracción.
- Identificar los tubos con la misma numeración que el volante de petición utilizando etiquetas con códigos de barras. Si se utilizan etiquetas preimpresas, las etiquetas sobrantes se remitirán al laboratorio junto con los volantes y los tubos extraídos.
- Colocar el compresor 4 cm por encima de la zona elegida para la punción.
- Localizar la vena.
- Desinfectar la piel con alcohol.
- Dejar secar la piel para evitar la producción de hemólisis en la muestra de sangre.
- Colocar la aguja en el portatubos.
- Puncionar la vena colocando el bisel hacia arriba.
- Conectar el tubo o tubos de vacío a la aguja. Los tubos se llenan hasta que se agote el vacío del que disponen.
- Si se van a extraer distintos tubos a un mismo paciente el orden de extracción deberá ser:
 1. Tubo sin aditivos.
 2. Tubo con gel separador.
 3. Tubo con citrato.
 4. Tubo con heparina.
 5. Tubo con EDTA.
 6. Tubo con oxalato-flúor.
- Nunca se pasará sangre de un tubo a otro.
- Una vez realizada la extracción retirar el compresor y la aguja.
- Realizar hemostasia con algodón seco.

- Desechar el material utilizado.
- Las agujas se desechan en contenedor rígido homologado de punzantes.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Se deben seguir las indicaciones específicas de cada laboratorio de referencia.
- Preferiblemente en ayunas para evitar lipemias.

Transporte y conservación de las muestras

- Para la observación directa de parásitos es importante analizar la muestra lo antes posible. Si el envío se va a demorar más de 2 horas, lo mejor es refrigerar la muestra.
- En el caso de las filarias, la observación directa requiere que la muestra se tome *in situ* para evitar una pérdida en la sensibilidad de la técnica significativa.
- Para su análisis mediante métodos moleculares o para un posterior envío al laboratorio, se puede conservar a 4°C.

Muestras inadecuadas

- Las muestras sin identificar.

Comentarios

- Si existe sospecha de infecciones infrecuentes se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología.

2. MUESTRAS DEL TRACTO URINARIO

2.1. Orina (micción media)

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.
- Detección de antígeno de *Streptococcus pneumoniae* y *Legionella pneumophila*.
- PCR múltiple de microorganismos causantes de ITS (ver apartado exudado uretral).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una orina.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Enterococcus</i> spp.	Otras enterobacterias <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Corynebacterium urealyticum</i>
Hongos		<i>Candida</i> spp.
Micobacterias		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles y jabón neutro.
- Recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético.
- Bolsa de plástico o colectores estériles para niños.

Técnica para obtener la muestra

- La muestra idónea es la primera micción de la mañana debido a la multiplicación de las bacterias durante la noche.
- No se debe forzar la ingesta de líquidos para que el paciente realice la micción. Una toma excesiva de líquidos provoca que la orina se diluya y disminuya el recuento de colonias por mL.

A. Obtención de la muestra en mujeres

- Lavado de genitales externos y zona adyacente. Secado de la zona con gasa estéril, siempre de delante atrás.
- Se separarán los labios mayores y menores. Se mantendrán separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.
- Se solicitará a la paciente que orine desechando los primeros 20-25 mL., 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 la superficie interior.

B. Obtención de la muestra en hombres

- Lavar las manos con agua y jabón.
- Retraer completamente el prepucio hasta que se haya recogido la orina.
- Limpiar el glande con jabón neutro.
- Eliminar los restos de jabón enjuagándolo con agua.
- Se pedirá al paciente que orine desechando los primeros 20-25 mL.
- Recoger el resto de la orina en el recipiente estéril.

C. Obtención de la muestra en niños (bolsa colectora)

- En niños y niñas mayores la orina se recoge de forma similar a los adultos.
- En niños y niñas más pequeños, la orina se recogerá en colectores o bolsas estériles de la siguiente forma:
 - Lavar los genitales y el área perianal de forma similar a la descrita en adultos.
 - Colocar la bolsa de plástico o el colector.
 - Vigilar la bolsa cada 30 minutos y tan pronto como el niño haya orinado, debe retirarse y enviarse al laboratorio para su procesamiento.
 - Para su transporte la bolsita puede introducirse cuidadosamente en un recipiente de boca ancha, evitando que la orina entre en contacto con la zona que ha estado adherida a la piel.
 - No vaciar la bolsita en el frasco.
 - Si la micción no se ha realizado en una hora, se repetirá la operación con una nueva bolsa.

D. Obtención de la muestra por sondaje vesical

- La muestra de orina para cultivo puede obtenerse directamente de la vejiga por sondaje vesical, evitando la posible contaminación con la microbiota uretral.
- El sondaje sólo se considera indicado cuando no sea posible obtener muestra por micción media, como es el caso de pacientes inmovilizados, obesos, con alteraciones neurológicas y en niños sin control de esfínteres.
- Si la muestra de orina se obtiene por sondaje, se indicará en la petición, ya que la valoración del cultivo es distinta.

E. Obtención de muestra por punción suprapúbica

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

F. Obtención de muestra de nefrostomía

- La nefrostomía permite el drenaje de orina directamente del riñón al exterior a través de un catéter introducido en la pelvis renal que drena a una bolsa colectora.
- En pacientes que tienen ya una nefrostomía, cuando existe sospecha de infección, debe cambiarse el catéter y obtener la muestra de orina por aspiración desde el nuevo catéter.
- En ocasiones no se sustituye el catéter y la orina se obtiene por aspiración después de retirar la bolsa y desinfectar la zona del estoma; en este caso, los resultados obtenidos del procesamiento de la muestra son de muy dudoso valor.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción.

Cultivo	Volumen	Comentarios
Bacterias	0.5-1 mL	- Una muestra es suficiente. - Recoger primera orina de la mañana. - Si el recipiente contiene ácido bórico, es necesario al menos 5 mL.
Hongos	0.5-1 mL	- Una muestra es suficiente. - Recoger primera orina de la mañana. - Si el recipiente contiene ácido bórico, es necesario al menos 5 mL.
Micobacterias	Mínimo 40 mL	- Se deben recoger 3 muestras de 3 días consecutivos. - No mezclar las muestras. - Recoger primera orina de la mañana.
Anaerobios	5-10 mL	- Sólo en orina de punción suprapúbica. - Contenedor específico para anaerobios.
Detección de antígenos	5-10 mL	- Antígenos de <i>Legionella</i> spp. y <i>Streptococcus pneumoniae</i> - Contenedor estéril con o sin conservante.
Parásitos (esquistosomiasis)	100 mL Orina 24h	- Recoger la muestra de orina después de mediodía (entre las 12h y las 15h) o recoger orina de 24h. - Es recomendable realizar ejercicio previo a la recogida de muestra para aumentar la eliminación de huevos.
Virus (CMV, BK, adenovirus, etc.)	5-10 mL	- Indicado en recién nacidos (CMV), trasplantados (BK), cistitis hemorrágica niños (adenovirus), o como muestra adicional para el diagnóstico por biología molecular de infecciones víricas sistémicas.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra para cultivo bacteriano debe enviarse al laboratorio lo antes posible o conservarse refrigerada a 4°C durante un tiempo máximo de 24 horas.

- Si la muestra se recoge en recipiente con ácido bórico, puede conservarse a temperatura ambiente durante 24 horas.
- Para estudio de micobacterias las muestras pueden conservarse a 4°C durante un máximo de 72 horas.
- Las muestras para detección de antígenos se puede conservar a temperatura ambiente ≤ 24 horas o refrigerada (2-8°C) hasta 14 días. Alternativamente las muestras se pueden congelar (-20°C).
- Las muestras para estudio de parásitos se conservarán en contenedor estéril sin conservante (24 horas máximo).
- Las muestras para estudio de virus se recogerán en contenedor estéril sin conservante o con medio de transporte de virus. La muestra se conservará refrigerada (2-8°C).

Muestras inadecuadas

- Muestras que no cumplen las condiciones descritas anteriormente.
- No deben enviarse muestras recogidas mediante torunda.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración.
- En el caso de no ser orina de micción media es muy importante especificar el origen de la muestra para que pueda ser procesada correctamente.
- Si existe sospecha de infección de transmisión sexual se recogerá orina de primera micción sin desechar el primer chorro. Contactar con el laboratorio de microbiología para la detección de microorganismos de transmisión sexual mediante técnica de PCR.
- En enfermos con piuria y cultivo de orina estéril se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología. Se puede realizar cultivo en medios especiales para la detección de microorganismos inhabituales.

2.2. Orina en pacientes con sonda permanente

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.

Microorganismos más frecuentes con significado clínico

- Consultar los microorganismos descritos en la orina de micción media.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Batea.
- Agua templada.
- Esponja con gel dermoprotector.
- Gasas estériles y no estériles.
- Solución acuosa con clorhexidina al 0.05% / etanol 70%.
- Pinzas para clampar.
- Jeringa de 10 ó 20 mL.
- Aguja de pequeño calibre.
- Recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético.

Técnica para obtener la muestra

- Si la sonda ha permanecido puesta más de 2 semanas debe cambiarse. Se debe obtener para cultivo la primera orina que fluye a través de la nueva sonda.

A. Sistemas colectores cerrados

- Pinzar el circuito de drenaje por debajo de la zona destinada a la extracción o zona de conexión sonda/bolsa durante 2 horas.
- Lavar con esponja y secar con gasas estériles la zona del sistema destinado a la punción.
- Desinfectar con solución de clorhexidina/ etanol 70% y dejar secar.
- Abrir el circuito de drenaje, dejando fluir una cantidad suficiente de orina que renueve la acumulada en el circuito durante el clampado y volver a cerrar el circuito.
- Puncionar en la zona destinada para ello o seleccionar una zona que no atraviese la vía del globo vesical.
- Extraer entre 10 y 20 mL de orina.
- Retirar la aguja, verter la orina en el frasco sin tocar los bordes y cerrarlo bien.
- Desinfectar nuevamente la zona de punción y despinzar el circuito.

B. Sistemas colectores abiertos

- Los sistemas de sondaje abiertos no permiten la recogida de muestras válidas.
- No son aceptables muestras recogidas de las bolsas colectoras ni puntas de sonda vesical.

Volumen o cantidad necesaria

- Extraer entre 10-20 mL.

Número de muestras y momento de la extracción

- Una muestra es suficiente.
- Recoger la orina de primera hora de la mañana.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra debe enviarse al laboratorio de microbiología lo antes posible, o conservarse refrigerada a 4°C durante un máximo de 24 horas.
- Si la muestra se recoge en recipiente con ácido bórico, puede conservarse a temperatura ambiente durante 24 horas.

Muestras inadecuadas

- Muestras que no cumplan las condiciones descritas anteriormente.
- Orinas de la bolsa de sondaje y puntas de sonda vesical.

Comentarios

- Las muestras obtenidas a través de sondas puestas por un periodo prolongado de tiempo (≥ 2 semanas) están contaminadas con bacterias de la biopelícula. Por este motivo, el número de bacterias que se aíslan es mayor comparado con la orina obtenida a través de una nueva sonda.
- La punta de la sonda no es una muestra adecuada para diagnóstico de ITU y no debe procesarse.

2.3. Orina en pacientes con prostatitis

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.

Microorganismos más frecuentes con significado clínico

- Consultar los microorganismos descritos en la orina de micción media.

Material necesario

- Se deben preparar 4 frascos estériles de boca ancha:
 - Frasco 1: primera orina.
 - Frasco 2: micción media premasaje.
 - Frasco 3: masaje prostático o semen.
 - Frasco 4: orina post-masaje.

Técnica para obtener la muestra (Técnica de Mears-Stamey)

- Retraer el prepucio y limpiar el meato y el glande igual que para urocultivo.
- El paciente orina y se recogen los primeros 10 mL en el frasco 1.
- Se recogen los segundos 10 mL en el frasco 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 frasco 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, recogiendo 10 mL en el frasco 4 (orina post-masaje).
- Se realizarán cultivos cuantitativos.
- Interpretación:
 - 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 al menos 10 veces superior al de los frascos 1 y 2, se atribuye a colonización prostática.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras deberán procesarse en menos de una hora.
- Para períodos más prolongados las muestras de orina se conservarán refrigeradas a 4°C.
- El fluido prostático/semen se conservará en nevera a 4°C (máximo 24 horas).

Comentarios

- Las muestras de semen no son adecuadas para cultivo porque están sistemáticamente contaminadas. 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.

3. MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

3.1. Exudado oral

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco (*Candida* spp.)
- Tinción de Gram y cultivo bacteriano (angina de Vincent).
- Cultivo de hongos.
- PCR específica de virus.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado oral.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias		<i>Treponema pallidum</i> <i>Borrelia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp.
Hongos	<i>Candida</i> spp.	
Virus	Virus herpes simple	

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Depresor lingual.
- Torundas de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Torunda con medio de transporte para virus.

Técnica para obtener la muestra

- Enjuagarse previamente la boca con agua.
- Frotar con la torunda las zonas purulentas o las lesiones de la mucosa oral, lengua u orofaringe.

- Utilizar el depresor para evitar contaminaciones con otras zonas de la boca.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Recoger la mayor cantidad posible de exudado.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para estudio de hongos es suficiente con una torunda.
- Para estudio adicional de virus se enviará otra torunda independiente.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las torundas para estudio de hongos se conservarán a temperatura ambiente o refrigerada si es posible (máximo 24 horas).
- Las torundas con medio de transporte para virus se conservarán refrigeradas a 2-8°C durante un máximo de 24 horas.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará junto a la duración del mismo.

3.2. Exudado nasal

Procedimiento microbiológico más habitual

- Cultivo bacteriano aerobio.

Microorganismo que se investiga en el exudado nasal

- *Staphylococcus aureus* (estudio de portadores).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda de alginato cálcico con medio de transporte de Stuart-Amies.

Técnica para obtener la muestra

- Introducir la torunda 2 cm dentro de la nariz.
- Rotar la torunda contra la mucosa nasal.
- Extraer e introducir la misma torunda en la otra fosa nasal y repetir el proceso anterior.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra se conservará a temperatura ambiente (máximo 24 horas).

Comentarios

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

3.3. Exudado faringo-amigdal

Procedimientos microbiológicos más habituales

A. Faringitis

- Cultivo bacteriano aerobio.
- Detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes* (test rápido).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado faríngeo.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Estreptococos β -hemolíticos (grupos C y G) <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> <i>Treponema pallidum</i> <i>Francisella tularensis</i>

B. Epiglotitis

- No se recomienda recoger exudado faríngeo para cultivo, ya que el valor diagnóstico es escaso y puede producirse una reacción inflamatoria muy importante que puede requerir intubación.

Microorganismos causantes de epiglotitis.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Depresor lingual.
- Torunda de dacron con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo).
- Torunda de dacron sin medio de transporte (detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes*).

Técnica para obtener la muestra

- Muestra adecuada: exudado faríngeo o periamigdalares.
- Bajo visión directa y con la ayuda de un depresor lingual, se tocará con una torunda en todas las zonas con exudado o inflamación. Se deben frotar las criptas tonsilares y la faringe posterior.
- No tocar nunca la mucosa oral, lengua o úvula.

Numero de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano es suficiente una muestra.
- Para la detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes* es suficiente una muestra.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las torundas con medio de transporte (para cultivo de bacterias) pueden conservarse a temperatura ambiente o refrigeradas (máximo 24 horas).

- Las torundas sin medio de transporte (para detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes*) se conservarán menos de 2 horas a temperatura ambiente o menos de 72 horas a 2-8°C.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- En pacientes con sospecha alta de faringitis bacteriana y detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes* negativa se recomienda tomar muestra para cultivo.
- Si existe sospecha de difteria (antecedente de viajes, consumo de leche no pasteurizada, etc) es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología de forma inmediata. Se recomienda enviar porciones de membrana recogidas en un contenedor estéril, una torunda de exudado faríngeo y una torunda de exudado nasofaríngeo recogido por vía pernasal.
- El diagnóstico microbiológico de las epiglotitis se realiza mediante hemocultivo, siendo positivo en el 50% de los casos.

3.4. Aspirado y exudado nasofaríngeo

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- PCR específica de *Bordetella* spp. (tos ferina).

Microorganismos con significado clínico

- *Bordetella pertussis*.
- *Bordetella parapertussis*.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Aspirados: tubo aspirador de teflón o jeringa y catéter.
- Frotis: torundas flexibles de dacron (alginato cálcico).

Técnica para obtener la muestra

- Muestra adecuada: aspirado nasofaríngeo es de elección.
- **Aspirados:** aspirar el moco pasando por vía pernasal un tubo de teflón o un catéter conectado a una jeringa, de igual forma que la torunda.
- **Frotis:** no comer dos horas antes. Pasar la torunda suavemente a través de las fosas nasales hasta llegar a la nasofaringe. Hay que mantener la torunda cerca del septum y suelo de la fosa. Rotar la torunda y extraerla.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Aspirado: se recomienda un volumen mayor de 1 mL.

Número de muestras y momento de la extracción

- Una torunda es suficiente.
- La extracción debe hacerse en el momento inmediatamente anterior a la siembra de la muestra.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- El transporte al laboratorio debe ser inmediato.

Comentarios

- En todos los casos en los que exista sospecha de tos ferina se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología (existe la posibilidad de realizar PCR).
- La siembra de la muestra debe realizarse de forma inmediata en medios de cultivo especiales (agar de Bordet Gengou).
- La sensibilidad del cultivo es del 50% y tiene mayor rendimiento en la fase exudativa de la enfermedad. La sensibilidad de la PCR es del 90% y su detección permanece positiva hasta 3 semanas tras el inicio de la enfermedad (no se ve afectada por tratamiento antibiótico previo).
- Si el enfermo ha recibido tratamiento antibiótico previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.

3.5. Exudado nasofaríngeo (SARS-CoV-2)

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Detección de antígeno.
- Detección de ARN viral mediante PCR o técnica molecular equivalente.

Microorganismo

- SARS-CoV-2.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torundas flexibles de dacron con medio líquido de transporte.
- En niños: utilizar torundas pediátricas (menor tamaño del hisopo).

Técnica para obtener la muestra

- Introducir la torunda suavemente a través de una fosa nasal hasta llegar a la nasofaringe.
- Rotar la torunda varias veces y extraerla.
- Repetir en la otra fosa nasal.

Número de muestras y momento de la extracción

- Una muestra por técnica.

Transporte y conservación de las muestras

- El transporte al laboratorio debe ser lo antes posible.
- Si no se puede enviar en el momento, conservar la muestra refrigerada (máximo 24 horas para PCR).
- Si la técnica de detección de antígenos no se puede realizar en el momento, conservar la muestra refrigerada (máximo una hora).

Muestras inadecuadas

- Torundas sin medio líquido de transporte.
- Muestras conservadas a temperatura ambiente durante mucho tiempo.

Comentarios

- El requisito principal de la muestra es contener el mayor número posible de células epiteliales, por ser en las que se replica el virus.
- La detección de antígeno de SARS-CoV-2 solo es útil en los 5 primeros días de la fase sintomática. A partir del sexto día carece de utilidad.

- La PCR puede permanecer positiva durante un periodo de tiempo muy variable, que puede alcanzar varios meses.
- Una PCR positiva no implica necesariamente que la persona sea contagiosa. En casos leves, se estima que el periodo de contagiosidad del virus es de 10 días desde el comienzo de los síntomas. Si la infección es moderada puede alcanzar los 14 días, y en casos graves o en inmunodeprimidos puede ser mayor (hasta 21 días).
- El CT es un marcador indirecto de carga viral. Su determinación no está estandarizada y depende de la técnica de PCR empleada, calidad de la muestra, tiempo de evolución, etc. Cada laboratorio establecerá el CT que se correlacione con menor carga viral.
- La detección del virus SARS-CoV-2 puede realizarse en muestras obtenidas en fosas nasales y saliva pero el rendimiento es menor.
- También puede realizarse en muestras del tracto respiratorio inferior como aspirado traqueal o broncoaspirado. La rentabilidad de estas muestras es mayor en caso de neumonía. Consultar con el laboratorio de microbiología.

4. MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

4.1. Esputo

Muestra

- No es una muestra representativa de la situación existente en el tracto respiratorio inferior por su mezcla con secreciones procedentes del árbol traqueobronquial y con la flora saprófita de la orofaringe.
- Es un método fácil y rápido cuya utilidad 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.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.
- PCR bacterias atípicas (*Mycoplasma* spp., *Chlamydomphila* spp., *Legionella* spp., *Coxiella* spp.).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un esputo.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catharralis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> <i>Chlamydomphila psittaci</i> <i>Coxiella burnetii</i> <i>Nocardia asteroides</i>
Hongos		<i>Aspergillus</i> spp. <i>Scedosporium</i> spp. <i>Fusarium</i> spp.
Micobacterias		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Micobacterias atípicas

Nota. No se consideran patógenos respiratorios la mayoría de las especies del género *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* del grupo *viridans*, *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp. y los estafilococos coagulasa negativos.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- El paciente se enjuagará la boca o hará gárgaras con agua.
- Obtener el esputo tras una expectoración profunda, preferentemente matinal.
- Si no se consigue expectoración espontánea, puede inducirse la misma con nebulizaciones de suero fisiológico estéril (25 mL. de solución salina estéril al 3-10%), siendo útil realizar un drenaje postural o fisioterapia respiratoria.

Volumen o cantidad necesaria

- El volumen mínimo para cultivo bacteriano y de hongos es 1 mL.
- El volumen mínimo para cultivo de micobacterias es 5-10 mL.
- En ningún caso se expectorará más de una vez en un mismo contenedor.

Número de muestras y momento de la extracción

- Cultivo bacteriano: es suficiente una muestra, si bien pueden solicitarse varios cultivos para evitar muestras que no cumplan los criterios de calidad.
- Cultivo de micobacterias: 3 muestras obtenidas en 3 días consecutivos.
- PCR de bacterias atípicas: es suficiente una muestra.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras deben enviarse al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Para estudio de bacterias y hongos la muestra se conservará a temperatura ambiente (máximo 2 horas). Si se prolonga más de 2 horas se conservará refrigerada a 2-8°C (máximo 24 horas).
- Para estudio de micobacterias la muestra se refrigerará a 4°C durante un máximo de 72 horas.
- Para estudio de bacterias atípicas (por técnica de PCR) la muestra se conservará menos de 2 horas a temperatura ambiente y hasta 5 días a 2-8°C.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Los esputos para cultivo de bacterias serán rechazados si no alcanzan la calidad suficiente.
- No se añadirá a la muestra ninguna sustancia conservadora ni antiséptica.
- El esputo no sirve para cultivo de bacterias anaerobias.

- Valorar la posibilidad de solicitar serología de *Mycoplasma* spp., *Chlamydothila* spp., *Legionella* spp., y *Coxiella* spp. en neumonías atípicas.
- Para disminuir la contaminación superficial de la muestra con la microbiota que coloniza el tracto respiratorio superior y la cavidad oral, se recomiendan algunas medidas antes de la recogida de la muestra, como el enjuague de la boca con agua o solución salina estéril.
- El esputo obtenido por expectoración espontánea debe ser el resultado de un **golpe de tos profunda** y contener secreciones purulentas representativas del tracto respiratorio inferior. **Se desecharán los esputos compuestos por saliva o secreciones postnasales.**
- El esputo inducido, obtenido por la inhalación de NaCl al 3% mediante un nebulizador ultrasónico, tiene su principal indicación para la detección de *Pneumocystis jiroveci* y *Mycobacterium tuberculosis*. Su utilidad es dudosa para el resto de los microorganismos.

4.2. Aspirado traqueal

Muestra

- La aspiración traqueal o endotraqueal es el método más sencillo de obtener secreciones respiratorias en los pacientes intubados y con ventilación mecánica.
- Tiene valor análogo al esputo por su contaminación con la flora orofaríngea.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y de hongos.
- Técnicas de biología molecular: paneles sindrómicos o PCR de un patógeno concreto.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un aspirado traqueal.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Enterobacterias</i> <i>Bordetella pertussis</i> <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Nocardia</i> spp. <i>Rhodococcus equi</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Hongos	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Pneumocystis jirovecii</i>	<i>Scedosporium</i> spp.
Virus	SARS-CoV-2 Virus influenza y parainfluenza VRS	Adenovirus Metapneumovirus Rinovirus

Nota. No se consideran patógenos respiratorios la mayoría de las especies del género *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* del grupo *viridans*, *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp. y los estafilococos coagulasa negativos.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Sonda de aspiración.
- Frasco colector de secreciones o frasco estéril con cierre hermético.

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente más de 2 mL de muestra.
- Las muestras deben recogerse antes de la instauración de tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Si se demora el transporte, conservar la muestra refrigerada a 2-8°C (máximo 24 horas).
- Para estudio de micobacterias, se puede conservar a 4°C durante un máximo de 72 horas.
- Para estudio por técnicas moleculares la muestra se conservará menos de 2 horas a temperatura ambiente y hasta 5 días a 2-8°C.

Muestras inadecuadas

- Muestras recogidas en recipientes no estériles.

Comentarios

- Si existe sospecha de *Legionella* spp., *Pneumocystis jirovecii* o *Nocardia* spp., o se requieren técnicas moleculares se debe especificar en la petición.
- No deben cultivarse las secreciones de la traqueostomía, ya que en las primeras 24 horas de su inserción se coloniza con bacterias que no se corresponden con las causantes de la infección.

4.3. Broncoaspirado

Muestra

- Secreciones respiratorias recogidas a través de un fibrobroncoscopio.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- Técnicas de biología molecular: paneles sindrómicos respiratorios.
- PCR de un patógeno respiratorio concreto.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un broncoaspirado

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado aspirado traqueal.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Catéteres telescopados protegidos y frasco colector de secreciones bronquiales o frasco estéril con cierre hermético.

Técnica para obtener la muestra

- Aspirado de secreciones respiratorias mediante fibrobroncoscopio.
- Puede ser necesario introducir suero salino para diluir las secreciones y facilitar la recogida.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Volumen mínimo: 5 mL, siendo superior si se requiere cultivo de patógenos especiales y técnicas de biología molecular.
- Es suficiente una muestra.
- Las muestras deben recogerse antes de la instauración del tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Si se demora el transporte, conservar la muestra refrigerada a 2-8°C (máximo de 24 horas).
- Para estudio de micobacterias la muestra se puede conservar refrigerada a 4°C durante un máximo de 72 horas.
- Para estudio por técnicas moleculares la muestra se conservará menos de 2 horas a temperatura ambiente y hasta 5 días a 2-8°C.

Muestras inadecuadas

- Muestras no conservadas en condiciones de esterilidad.

Comentarios

- Si existe sospecha de *Legionella* spp., *Pneumocystis jirovecii* o *Nocardia* spp., se debe especificar en la petición.

4.4. Cepillado bronquial

Muestra

- Cepillado de la mucosa bronquial del lóbulo afectado a través de un fibrobroncoscopio mediante un cepillo telescópico protegido por un doble catéter ocluido distalmente para evitar la contaminación de vías altas.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- Técnicas de biología molecular: paneles sindrómicos respiratorios,
- PCR de un patógeno respiratorio concreto.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un cepillado bronquial

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado aspirado traqueal.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Se utilizarán catéteres telescópicos con cepillo protegidos y tubo estéril con 1 mL de suero fisiológico.

Técnica para obtener la muestra

- La muestra corresponde a células de la pared del conducto aéreo.
- La obtención de la muestra debe realizarse con catéteres telescópicos protegidos.

- El catéter interno contiene un cepillo con numerosas cerdas flexibles y el externo está ocluido en su porción distal por un tapón de material reabsorbible. Al llegar con el fibroscopio hasta el bronquio que conduce al foco infeccioso, se empuja el cepillo para desalojar el tapón y obtener la muestra, girándolo suavemente para conseguir que se adhieran las secreciones de los bronquiolos distales. Estas muestras pretenden recuperar células de la pared del conducto aéreo.
- Una vez recogida la muestra, cortar el cepillo en condiciones estériles e introducir en recipiente estéril con 1 mL de solución salina.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Se debe recoger en 1 mL de suero salino.
- Es suficiente con una muestra.
- Siempre que sea posible, las muestras para estudio microbiológico deben recogerse antes de la instauración del tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Enviar la muestra lo más rápidamente posible al laboratorio de microbiología.
- Si el transporte se demora, conservar la muestra refrigerada a 2°-8°C (máximo 24 horas).
- Para estudio de micobacterias la muestra se refrigerará a 4°C (máximo 72 horas).
- Para estudio por técnicas moleculares la muestra se conservará menos de 2 horas a temperatura ambiente y hasta 5 días a 2-8°C.

Muestras inadecuadas

- Muestras no conservadas en condiciones de esterilidad.

Comentarios

- Si existe sospecha de *Legionella* spp., *Pneumocystis jirovecii* o *Nocardia* spp. o se requieren técnicas moleculares especificarlo en la petición.
- Si se van a obtener varias muestras, el orden de recogida indicado es obtener en primer lugar el lavado broncoalveolar antes que el cepillado bronquial o la biopsia.

4.5. Lavado broncoalveolar

Muestra

- El lavado broncoalveolar es una muestra representativa de los bronquiolos distales y alvéolos.
- Consiste en un lavado de un segmento pulmonar (lóbulo medio o lóbulo superior) previo anclado del broncoscopio, introduciendo de 20 a 100 mL de suero fisiológico. Después de cada instilación se hace una aspiración para recuperar el máximo volumen de líquido posible, formado por una mezcla del suero fisiológico y secreción broncoalveolar.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- Técnicas de biología molecular: paneles sindrómicos respiratorios.
- PCR de un patógeno respiratorio concreto.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un lavado broncoalveolar

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado aspirado traqueal.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Catéteres telescopados protegidos y frasco colector de secreciones o frasco estéril con cierre hermético.

Técnica para obtener la muestra

- Se enclava el broncoscopio en el bronquio del segmento pulmonar radiográficamente afecto y se instilan volúmenes variables de suero fisiológico estéril. Después de cada instilación se hace una aspiración para recuperar el máximo volumen de líquido posible.
- La primera porción de líquido aspirado debe descartarse para el estudio microbiológico ya que suele contener un exceso de células escamosas y ciliadas. El último líquido aspirado es el que mejor representa el contenido alveolar.
- Aspirar suavemente para recoger la muestra antes de la siguiente instilación. Pueden emplearse varias alícuotas en cada zona a muestrear.
- Indicar, en caso de que se envíen más de una aspiración, si proceden del mismo sitio anatómico o no.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- El volumen de muestra obtenido depende del volumen instilado y puede variar entre 10-100 mL.
- Se considera que para tener una buena eficacia diagnóstica el volumen de líquido recuperado debe ser superior al 30% del introducido.
- Volúmenes recuperados inferiores a 10 mL no son representativos de la afección pulmonar.
- Es suficiente con una muestra.

- Siempre que sea posible, las muestras para estudio microbiológico deben recogerse antes de la instauración del tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Enviar la muestra lo más rápidamente posible al laboratorio de microbiología.
- Si se demora el transporte, conservar la muestra refrigerada (2-8°C), máximo 24 horas.
- Para estudio de micobacterias la muestra se puede conservar refrigerada a 4°C durante un máximo de 72 horas.
- Para estudio por técnicas moleculares la muestra se conservará menos de 2 horas a temperatura ambiente y hasta 5 días a 2-8°C.

Muestras inadecuadas

- Muestras no conservadas en condiciones de esterilidad.

Comentarios

- Si se sospecha de *Legionella* spp., *Pneumocystis jirovecii* o *Nocardia* spp. o se requiere de técnicas moleculares, se debe especificar en la petición.
- La primera porción de líquido aspirado debe descartarse para el estudio microbiológico ya que suele contener un exceso de células escamosas y ciliadas. El último líquido aspirado es el que mejor representa el contenido alveolar. Indicado especialmente en procesos pulmonares intersticiales.
- Si se van a obtener varias muestras, el orden de recogida indicado es obtener en primer lugar el lavado broncoalveolar antes que el cepillado bronquial o la biopsia transbronquial, con el fin de evitar el exceso de sangre en los líquidos de lavado, que puede alterar la concentración de los componentes celulares.

4.6. Biopsia transbronquial

Muestra

- Tejido pulmonar obtenido mediante técnica broncoscópica.
- Es una técnica útil que puede evitar la biopsia pulmonar quirúrgica en casos seleccionados.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una biopsia transbronquial

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado aspirado traqueal.

Volumen necesario y número de muestras

- Se debe obtener la máxima cantidad posible.
- Añadir 1 mL de suero fisiológico estéril (o agua estéril si es para cultivo de micobacterias) .

Transporte y conservación

- A temperatura ambiente: menos de 2 horas.
- Refrigerado a 4°C: menos de 24 horas.

Comentarios

- La biopsia transbronquial puede tener complicaciones como el neumotórax o la hemorragia.

- Si se van a obtener varias muestras, el orden de recogida indicado es obtener en primer lugar el lavado broncoalveolar antes que el cepillado bronquial o la biopsia transbronquial.

5. MUESTRAS DE OÍDO

5.1. Exudado ótico

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado ótico.

Patología	Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Otitis externa	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc)
	Hongos	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp.	
Otitis media aguda	Bacterias	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Alloiococcus otitidis</i> Enterobacterias <i>Turicella otitidis</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torundas de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Un antiséptico suave (ej. cloruro de benzalconio al 1/100).
- Jeringa con aguja estéril (timpanocentesis).
- Contenedor estéril de boca ancha y cierre hermético (timpanocentesis).

Técnica para obtener la muestra

- A. Oído medio con tímpano íntegro:** recogida de material del oído medio por tímpanocentesis.
- B. Oído medio con tímpano perforado:** tras la limpieza del canal externo y cuidando de no tocar otras zonas, se introducirá la torunda y se recogerá muestra del exudado que drena por la perforación, empleando un otoscopio estéril.
- C. Oído externo:** bajo inspección otoscópica, se recogerá muestra del exudado con torunda.
- D. Absceso:** el contenido debe aspirarse con jeringa y transferirse a un contenedor estéril y en ningún caso debe enviarse la jeringa con la aguja por el riesgo de pinchazos.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda obtener la mayor cantidad posible de exudado.

Número de muestras y momento de la extracción

- Una muestra para cada oído.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las torundas con medio de transporte para cultivo bacteriano y de hongos pueden conservarse a temperatura ambiente (máximo 48 horas).
- Mantener las torundas refrigeradas a 4°C si la sospecha es de infección fúngica.
- Las muestras líquidas (obtenidas por tímpanocentesis) deben refrigerarse a 4°C si no se procesan antes de 2 horas.
- No serán aceptadas muestras recogidas en jeringa que lleguen al laboratorio con la aguja o la jeringa sin tapar.
- Retrasos superiores a 48 horas no son deseables.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- La muestra más representativa para realizar el diagnóstico etiológico de la otitis media es la obtenida mediante tímpanocentesis. El contenido del oído medio se debe extraer por aspiración, evitando la contaminación con la flora bacteriana habitual del conducto auditivo externo.
- Si existe perforación del tímpano pueden recuperarse los agentes causantes de otitis media en el exudado de oído externo. Esta muestra se tomará mediante torunda.

6. MUESTRAS OCULARES

6.1. Exudado conjuntival

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- PCR de virus.
- PCR de *Chlamydia trachomatis* (en casos muy concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado conjuntival.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Moraxella</i> spp. <i>Neisseria</i> spp. Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i>
Virus		Adenovirus Virus herpes simple

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torundas de alginato cálcico o dacron con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Suero salino estéril.
- Torunda con medio de transporte para virus.

Técnica para obtener la muestra

- Con una torunda mojada en suero fisiológico frotar sobre la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix.
- Especificar en la torunda la localización de la muestra (ojo izquierdo o derecho).
- Para la investigación de *Chlamydia trachomatis* de debe obtener otra muestra independiente.
- Everter el párpado y frotar con una torunda la superficie conjuntival.
- Para investigación de virus se requiere torunda con medio de transporte de virus.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Obtener la mayor cantidad posible de exudado.

Número de muestras y momento de la extracción

- Una torunda para cada ojo.
- La muestra debe obtenerse antes de la instilación de analgésicos locales, colirios o antibióticos.

Transporte y conservación de las muestras

- Las torundas para cultivo bacteriano se deben mantener a temperatura ambiente hasta 24 horas.
- Para la detección de *Chlamydia trachomatis* mediante PCR las muestras deben mantenerse refrigeradas a 2-8°C durante un máximo de 24-48 horas.
- Las torundas con medio de transporte para virus se mantendrán refrigeradas a 2-8°C durante un máximo de 48 horas.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.

- 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.
- La detección de *Chlamydia trachomatis* requiere PCR. No se realiza de manera rutinaria. Se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología.

6.2. Raspado corneal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo de bacterias aerobias y anaerobias.
- Cultivo de hongos.
- PCR de virus y parásitos (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un raspado corneal.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. Enterobacterias <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . <i>Cutibacterium</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp. <i>Moraxella</i> spp. <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Achromobacter xylosoxidans</i> <i>Bacillus</i> spp.
Hongos		<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.
Virus	Virus herpes simple	Adenovirus Virus varicela zóster
Parásitos	<i>Acanthamoeba</i> spp.	

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Lámpara de hendidura o microscopio quirúrgico.
- Anestésico local (clorhidrato de propacaína).
- Hoja de bisturí nº 15 con mango Bard-Parker, espátula de platino flexible de Kimura esterilizada o aguja estériles.
- Torunda de alginato cálcico o de nylon flocado con medio de transporte amies líquido.
- Medio de transporte para virus.
- Medios de cultivo (agar sangre, agar chocolate, agar Saboreaud-cloramfenicol y caldo tioglicolato) y portaobjetos proporcionados por el laboratorio de microbiología en el momento de la toma de muestra.

Técnica para obtener la muestra

- Avisar previamente al laboratorio de microbiología para proporcionar el material necesario.
- La siembra se realizará preferiblemente en la consulta de oftalmología.
- Utilizar una lámpara de hendidura o microscopio quirúrgico para facilitar la toma de la muestra.
- Instilar una o dos gotas de anestésico tópico y dejar pasar un tiempo antes de tomar la muestra.
- Separar totalmente los párpados durante la recogida para evitar contaminaciones.
- Raspar tanto el centro del área inflamada de la úlcera como los bordes, realizando golpes cortos y moderadamente firmes en una dirección con la parte no cortante de una hoja de bisturí Nº 15, una espátula de platino flexible de Kimura esterilizada o con una aguja estéril.
- Cada raspado se emplea para inocular un medio de cultivo extendiendo ligeramente el material con la cuchilla, espátula o aguja en dos o tres lugares de la placa mediante siembra separada en forma de letra “C” y sin penetrar el agar.
- Realizar también una extensión en portaobjetos.

- En el caso de caldo de tioglicolato se introducirán las raspaduras hasta el fondo del tubo o bien se puede introducir la espátula, hoja de bisturí o aguja, siempre y cuando que la toma se haya realizado utilizando guantes estériles.
- Si no se pueden sembrar directamente los medios de cultivo en la consulta de oftalmología, se puede realizar una sola toma con torunda de alginato cálcico o de nylon flocado con medio de transporte amies líquido.
- Si la clínica es compatible con infección por ameba, inocular la muestra en un agar no nutritivo (para cultivo) o bien en medio de transporte líquido (para PCR).
- Si existe sospecha de infección viral la muestra se inoculará en medio de transporte para virus.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Generalmente se obtiene muy poco material por lo que es necesario priorizar medios no selectivos (agar chocolate) y portaobjetos.
- Siempre que sea posible, las muestras para estudio microbiológico deben recogerse antes del inicio de tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Los medios de cultivo inoculados con la muestra deben enviarse de inmediato: menos de 15 minutos a temperatura ambiente
- Las torundas con medio de transporte: menos de 24 horas conservadas a temperatura ambiente.
- Los viales con medio de transporte para virus se conservarán refrigerados.

Comentarios

- Las muestras obtenidas con torunda no son útiles para el diagnóstico de la queratitis amebiana.

6.3. Humor acuoso

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo de bacterias aerobias y anaerobias.
- Cultivo de hongos.
- PCR de virus y parásitos (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en humor acuoso.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. Enterobacterias <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Cutibacterium</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp. <i>Moraxella</i> spp. <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Bacillus</i> spp.
Hongos		<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.
Virus	Virus herpes simple CMV	Adenovirus Virus varicela zóster
Parásitos		<i>Toxoplasma gondii</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Lámpara de hendidura o microscopio quirúrgico.
- Anestésico local.
- Jeringa, aguja de pequeño calibre (de 25 a 30 G) y capuchón estéril.
- Tubo estéril con tapón de rosca.

Técnica para obtener la muestra

- Utilizar una lámpara de hendidura o microscopio quirúrgico para facilitar la toma de la muestra.
- Instilar una o dos gotas de anestésico tópico y dejar pasar un tiempo antes de tomar la muestra.
- Separar totalmente los párpados durante la recogida para evitar contaminaciones.
- Obtener la muestra por paracentesis de la cámara anterior.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Suele obtenerse un pequeño volumen de muestra que oscila entre 0,1-0,2 mL.
- Siempre que sea posible, las muestras para estudio microbiológico deben recogerse antes del inicio de tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Enviar la muestra en la jeringa utilizada sin aguja y cerrada con un capuchón estéril para evitar contaminaciones (preferible) o en un tubo estéril con tapón de rosca.
- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología inmediatamente, dentro de los 30 minutos tras su extracción.
- En casos excepcionales donde este transporte rápido no sea posible, la muestra se conservará a temperatura ambiente un máximo de 24 horas (cultivo bacteriano) o refrigerada a 4°C para PCR de virus o parásitos.

Comentarios

- Debido al pequeño volumen que se obtiene, es aconsejable priorizar los estudios solicitados en base a la sospecha clínica.
- Para la recuperación de los hongos, el humor vítreo es más rentable que una aspiración de humor acuoso.

6.4. Humor vítreo

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo de bacterias aerobias y anaerobias.
- Cultivo de hongos.
- PCR de virus y parásitos (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en humor vítreo

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado humor acuoso.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Vitreotomo.
- Jeringa, aguja de 23-30 G y capuchón estéril para cerrar la jeringa.
- Recipiente estéril de cierre hermético.
- Medios de cultivo (agar sangre, agar chocolate, agar Saboreaud-cloramfenicol y caldo tioglicolato) proporcionados por el laboratorio de microbiología en el momento de la toma de la muestra.

Técnica para obtener la muestra

- Obtener la muestra por punción-aspiración con aguja y jeringa o mediante una vitrectomía pars plana (VPP) con un vitreotomo. Esta técnica se puede realizar en quirófano o en la consulta. Se obtienen dos tipos de muestras: una primera parte de humor vítreo sin diluir y una segunda parte diluido tras la infusión de solución salina balanceada.

- La muestra de humor vítreo sin diluir es recomendable que se inocule directamente en los medios de cultivo en el momento de su extracción o que se envíe en la jeringa utilizada sin aguja y cerrada con un capuchón estéril para evitar contaminaciones.
- La muestra de humor vítreo diluido se puede trasvasar a un recipiente estéril.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Volumen de muestra obtenida por punción-aspiración: 0,1-0,5 mL.
- Volumen obtenido de muestra sin diluir tras vitrectomía: 1-1,5 mL.
- Volumen obtenido de muestra diluida tras vitrectomía: 50 a 100 mL.
- Se obtiene mayor cantidad de muestra con la vitrectomía que con la punción-aspiración.
- Siempre que sea posible, las muestras para estudio microbiológico deben recogerse antes del inicio de tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra de humor vítreo no diluido se mandará inoculada en los medios de cultivo o en la jeringa utilizada sin aguja y cerrada con un capuchón estéril para evitar contaminaciones.
- La muestra de humor vítreo diluido se debe enviar al laboratorio de microbiología en el cassette de vitrectomía o en un envase estéril.
- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología inmediatamente, dentro de los 30 minutos tras su extracción.
- En casos excepcionales donde este transporte rápido no sea posible se almacenarán a temperatura ambiente un máximo de 24 horas (cultivo bacteriano) o refrigerada a 4°C para PCR de virus o parásitos.

Comentarios

- Debido al pequeño volumen que se obtiene, es aconsejable priorizar los estudios solicitados en base a la sospecha clínica.
- Para la recuperación de los hongos, el humor vítreo es más rentable que la aspiración de humor acuoso.
- Los cultivos vítreos tras una vitrectomía tienen mayor rentabilidad que un aspirado vítreo con aguja y jeringa. Además permite obtener una mayor cantidad de muestra.

6.5. Muestras del aparato lagrimal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.

Microorganismos que pueden aislarse en infecciones del saco lagrimal.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus coagulasa negativos</i> ¹ <i>Streptococcus spp.</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Cutibacterium spp.</i> ¹ <i>Corynebacterium spp.</i> ¹	<i>Enterococcus spp.</i>
Hongos		<i>Candida spp.</i>

¹Evolución subaguda.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torundas con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Agujas y jeringas estériles.
- Suero salino estéril
- Vial de transporte para anaerobios tipo Portagerm[®].

Técnica para obtener la muestra

A. Dacriocistitis

- El exudado del saco lacrimal se obtiene por presión en el conducto o en el saco lacrimal para drenar la secreción purulenta.
- Se recogerá con aguja y jeringa o con una torunda.
- En caso de dacriocistorrinostomía, la muestra se puede obtener en el procedimiento quirúrgico, aspirando el absceso con aguja y jeringa.
- Se recomienda también la toma de muestras conjuntivales.

B. Dacrioadenitis

- Las muestras de exudados de la glándula lacrimal se recogen frotando con una torunda por la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix.
- Si se forma un absceso en la glándula lacrimal se puede obtener la muestra quirúrgicamente por aspiración con aguja y jeringa.
- En la inflamación crónica de la glándula lacrimal se puede obtener una biopsia de esta glándula.

C. Canaliculitis

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

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra.
- Recoger la muestra antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- No se recomienda el envío de jeringas por el riesgo de pinchazos.
- La muestra debe inocular en un contenedor estéril con medio de transporte para anaerobios tipo Portagerm[®]. Si no es posible, se enviará en torunda.
- La muestra puede conservarse un máximo de 24 horas a temperatura ambiente.

7. MUESTRAS DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS

7.1. Exantema

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio, de hongos y micobacterias.
- PCR para virus, bacterias especiales y micobacterias (en casos concretos)

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exantema.

Exantema	Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Vesicular-ampollosa	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Capnocytophaga canimorsus</i>
	Virus	Virus herpes simple Virus varicela zóster	
Nodular o papular	Bacterias	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> <i>Bartonella</i> spp.
	Hongos		<i>Candida</i> spp.
	Micobacterias		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium marinum</i>
	Virus	Virus herpes simple Virus varicela zóster	
Purpúrico	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>S. pneumoniae</i>	<i>Capnocytophaga canimorsus</i> <i>Neisseria meningitidis</i>
Eritematoso	Bacterias	<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>

Material necesario para la toma de la muestra.

- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.
- Jeringa y aguja estéril.
- Contenedor estéril con tapón de rosca.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Torunda de dacron con medio de transporte para virus.

Técnica para obtener la muestra

A. Aspiración con aguja

- Es el procedimiento con mayor rendimiento y menor probabilidad de contaminación, sobre todo si existen vesículas. Debe realizarse siempre que sea posible.
- Lavar la superficie de la lesión con una gasa humedecida en suero salino y desinfectar con alcohol o povidona iodada.
- Aspirar el contenido del exantema con aguja y jeringa de las zonas profundas o de los bordes.
- Si el contenido es mínimo o no existe pus, se puede instilar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y volver a aspirarlo.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril.
- No se recomienda enviar la jeringa con aguja por el riesgo de pinchazos.

B. Frotis con torunda

- Las muestras recogidas con torunda **NO** son recomendables por tener menor cantidad de muestra y presentar mayor riesgo de contaminación con flora saprofita de la piel. La obtención de la muestra mediante torunda puede dar lugar al aislamiento de microorganismos colonizadores no relacionados con la infección.

- Deberán usarse torundas con medio de transporte.
- Limpiar la superficie de la lesión con una gasa humedecida en suero salino.
- Si la lesión es costrosa se debe retirar la costra con la ayuda de la punta de una aguja estéril.
- Rotar la torunda sobre la base de la lesión evitando contaminación con las zonas adyacentes.

Volumen o cantidad necesaria de la muestra

- Aspirar o recoger la mayor cantidad posible de muestra.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para estudio de bacterias y hongos es suficiente una muestra.
- Para estudio adicional de virus o micobacterias se enviará una muestra independiente.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

A. Aspirados con jeringas

- Las muestras obtenidas mediante jeringa deben enviarse al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Las muestras para estudio de bacterias y hongos se pueden conservar a temperatura ambiente (máximo 72 horas).
- Las muestras para estudio de micobacterias se pueden conservar refrigeradas (2-8°C) un máximo de 72 horas.
- Las muestras para PCR de virus se deben mantener refrigeradas (2-8°C) hasta 24 horas. Para intervalos mayores se deben congelar a -70°C.

B. Torundas

- Las torundas para cultivo bacteriano o de hongos con medio de transporte se enviarán al laboratorio de microbiología antes de 2 horas. Si no es posible, se mantendrán refrigeradas entre 2-8°C (máximo 24 horas).
- Las torundas con medio de transporte para virus se pueden conservar refrigeradas entre 2-8°C durante un máximo de 24 horas. Para intervalos más prolongados se deben congelar a -70°C.

Muestras inadecuadas

- Muestras mal identificadas.
- Muestras recibidas en torundas sin medio de transporte.
- Las torundas no son válidas para cultivo de micobacterias.
- Muestras para estudio de virus mediante PCR enviadas en torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará junto a la duración del mismo.
- La mejor muestra para estudio de micobacterias es la biopsia. Deben enviarse en un contenedor estéril con suero fisiológico estéril. Pueden conservarse refrigeradas a 2-8°C durante un máximo de 24 horas.
- Las biopsias cutáneas para PCR de *Borrelia burgdorferi* o *Ehrlichia chaffeensis* deben recogerse en un contenedor estéril con suero fisiológico estéril y mantenerse refrigeradas a 2-8°C.
- El aislamiento de bacterias de la piel como estafilococos coagulasa negativos, *Cutibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp. o *Kocuria* spp. puede indicar contaminación del cultivo por recogida inadecuada de la muestra.

7.2. Escara

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una escara.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias aerobias	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> del grupo <i>viridans</i>	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Nocardia</i> spp.
Bacterias anaerobias	<i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp.	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Prevotella</i> spp.
Hongos	<i>Candida</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Mucor</i> spp.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.
- Jeringa y aguja estéril.
- Tubo o contenedor estéril con tapón de rosca, o vial específico para anaerobios tipo Portagerm®.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies.

Técnica para obtener la muestra

A. Aspiración con aguja

- Es el procedimiento de mayor rendimiento diagnóstico. Debe realizarse siempre que sea posible.
- Lavar la superficie de la herida con suero fisiológico estéril y desbridar si es necesario.
- Seleccionar el punto con mayor cantidad de tejido de granulación y sin necrosis.
- Pinchar desde fuera de la herida en la piel sana.
- La punción se realiza con aguja intramuscular en dirección hacia el borde de la herida.
- Aspirar 0,5/1 mL de contenido.
- Si la muestra es insuficiente, inyectar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y aspirarlo nuevamente con la jeringa.
- Retirar aire e inocular en vial tipo Portagerm[®] o contenedor estéril (peor rendimiento).
- No se recomienda enviar la jeringa con aguja por el riesgo de pinchazos.

B. Frotis con torunda

- Las muestras recogidas con torunda **NO** son recomendables por tener menor cantidad de muestra y presentar mayor riesgo de contaminación con flora saprofita de la piel. La obtención de la muestra mediante torunda puede dar lugar al aislamiento de microorganismos colonizadores no relacionados con la infección.
- Deberán utilizarse torundas con medio de transporte.
- Lavar la superficie de la escara con suero fisiológico estéril y desbridar si es necesario.
- Existen **diferentes técnicas** de toma de la muestra, pero las más clásicas son la técnica de **Levine** (presión en una zona del lecho de 1 cm² durante 5 segundos), y la técnica en **zig-zag** (desplazamiento con rotación del hisopo por 10 puntos a través de todo el lecho de la herida, sin

tocar esfacelo ni los bordes de la lesión). La técnica de Levine ha mostrado mayor fiabilidad porque tiene mayor concordancia microbiológica.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda la mayor cantidad posible en caso de obtenerse mediante punción.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra por escara.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

A. Aspirados con agujas

- El contenedor debe enviarse al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Se pueden conservar a temperatura ambiente (máximo 72 horas).

B. Torundas

- Las torundas con medio de transporte se enviarán al laboratorio de microbiología antes de 2 horas. Si no es posible, se mantendrán a temperatura ambiente (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán para cultivo aquellas muestras que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.

Comentarios

- Todas las úlceras cutáneas están colonizadas por bacterias. El aislamiento de bacterias no indica necesariamente que la escara esté infectada, sobre todo si la muestra se ha obtenido con torunda. Los resultados del cultivo deben evaluarse con precaución cuando la muestra se obtiene mediante torunda.
- La visualización de leucocitos en la tinción de Gram puede orientar sobre el valor clínico de los microorganismos aislados, especialmente si la muestra se obtiene mediante torunda.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración.
- Especificar la localización anatómica de la muestra y las características que presenta.
- Si existe sospecha de infección por *Bacillus anthracis* (carbunco) deberá comunicarse al laboratorio de forma inmediata.
- Si la escara se asocia a celulitis, la obtención de la muestra se realizará mediante punción aspiración con aguja del borde eritematoso de la lesión.
- El aislamiento de bacterias de la piel como estafilococos coagulasa negativos, *Cutibacterium* spp, *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., o *Kocuria* spp., puede indicar contaminación del cultivo por recogida inadecuada de la muestra.

7.3. Absceso

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un absceso.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias aerobias	<i>Enterobacterias (Escherichia coli, Proteus spp., Klebsiella spp., etc)</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Streptococcus del grupo viridans</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Enterococcus spp.</i>	<i>Aeromonas spp.</i> <i>Achromobacter spp.</i> <i>Haemophilus spp.</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Nocardia spp.</i> <i>Brucella spp.</i>
Bacterias anaerobias	<i>Bacteroides spp.</i> <i>Clostridium spp.</i> <i>Prevotella spp.</i> <i>Peptostreptococcus spp.</i> <i>Finegoldia magna</i> <i>Peptoniphilus spp.</i>	<i>Fusobacterium spp.</i> <i>Porphyromonas spp.</i> <i>Actinomyces spp.</i> <i>Actinotignum spp.</i> <i>Lactobacillus spp.</i>
Hongos	<i>Candida spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>
Micobacterias		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Micobacterias atípicas

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico al 70%.
- Povidona iodada al 10%.
- Jeringa y aguja estéril.
- Contenedor estéril con tapón de rosca o vial específico para anaerobios tipo Portagerm[®].

Técnica para obtener la muestra

- Desinfectar la superficie cutánea con una gasa estéril impregnada en alcohol, limpiando la lesión de forma concéntrica comenzando por el centro y abarcando una zona de unos 10 cm.
- Repetir la operación con povidona iodada. En pacientes con hipersensibilidad al yodo se utilizará alcohol 2 veces consecutivas.
- Dejar secar al menos un minuto para que la povidona ejerza su acción antiséptica.
- Realizar una punción aspiración del absceso con jeringa y aguja.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril o vial específico tipo Portagerm[®].
- No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.
- Para cultivo de micobacterias es preferible obtener la muestra mediante biopsia. Introducirla en un contenedor estéril con suero fisiológico.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda recoger un volumen de 1-5 mL.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo de bacterias y hongos es suficiente una muestra.
- Para cultivo adicional de micobacterias se enviará una muestra independiente.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra debe enviarse al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Para cultivo de bacterias y hongos la muestra se conservará a temperatura ambiente (máximo 72 horas).
- Para estudio de micobacterias la muestra se conservará refrigerada a 4°C (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán para cultivo aquellas muestras que se obtengan mediante torundas y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- Para cultivo de micobacterias no son útiles las muestras recogidas mediante torunda.

Comentarios

- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento antibiótico.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Especificar en la petición la localización anatómica de la muestra.
- Cuando exista sospecha de infección por microorganismos altamente patógenos (e.j. *Brucella* spp., *Bacillus anthracis*), se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología de forma inmediata.
- El aislamiento de bacterias de la piel como estafilococos coagulasa negativos, *Cutibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp. o *Kocuria* spp. puede indicar contaminación del cultivo por recogida inadecuada de la muestra.

7.4. Exudado de fístula

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una fístula

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado absceso.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico al 70%.
- Povidona iodada al 10%.
- Jeringa y aguja estéril.
- Contenedor estéril con tapón de rosca o vial específico para anaerobios tipo Portagerm®.

Técnica para obtener la muestra

- Desinfectar la superficie cutánea con una gasa estéril impregnada en alcohol.
- Repetir la operación con povidona iodada y dejar secar. En pacientes con hipersensibilidad al yodo se utilizará alcohol dos veces consecutivas.
- Dejar secar al menos un minuto para que la povidona ejerza su acción antiséptica.
- Aspirar el exudado de la parte **profunda** de la fístula con jeringa y aguja.

- Si la muestra es insuficiente se podrá instilar suero fisiológico estéril y posteriormente se aspirará con la jeringa.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril o vial específico tipo Portagerm®.
- No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.
- Si no es posible recoger la muestra mediante aspiración con aguja, se obtendrá la muestra con una torunda, realizando un frotis de la parte profunda (peor rendimiento).

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda recoger un volumen de 1-5 mL.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente con una muestra.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Enviar la muestra al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Las muestras se pueden conservar a temperatura ambiente un máximo de 72 horas.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán para cultivo aquellas muestras que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.

Comentarios

- Las fístulas son muestras de mala calidad microbiológica porque suelen estar colonizadas por bacterias saprofitas de la piel como estafilococos coagulasa negativos, *Cutibacterium* spp,

Corynebacterium spp., *Micrococcus* spp. o *Kocuria* spp. El aislamiento de estas bacterias puede indicar contaminación del cultivo por recogida inadecuada de la muestra.

- Las muestras obtenidas mediante torunda son de mala calidad para cultivo microbiológico. La rentabilidad es baja y los resultados se deben evaluar con precaución.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición.
- Especificar la localización anatómica de la muestra.

7.5. Exudado de herida

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una herida

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado absceso.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.
- Jeringa y aguja estéril.
- Contenedor estéril con tapón de rosca o vial específico para anaerobios tipo Portagerm[®].
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies.

Técnica para obtener la muestra

A. Aspiración con aguja

- Es el procedimiento de mayor rendimiento diagnóstico. Debe realizarse siempre que sea posible.
- Lavar la superficie de la herida con suero fisiológico estéril y desbridar si es necesario.
- Seleccionar el punto con mayor cantidad de tejido de granulación y sin necrosis.
- Pinchar desde fuera de la herida en la piel sana.
- La punción se realiza con aguja intramuscular, a 45 grados, en dirección hacia el borde de la herida.
- Aspirar 0,5/1 mL de contenido.
- Recoger el pus con jeringa y aguja aspirando de zonas profundas o de los bordes.
- Si la muestra es insuficiente o no existe pus, inyectar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y aspirarlo nuevamente con la jeringa.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril o vial específico tipo Portagerm[®].
- No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.

B. Frotis con torunda

- Las muestras recogidas con torunda **NO** son recomendables por tener menor cantidad de muestra y presentar mayor riesgo de contaminación con flora saprofita de la piel. La obtención de la muestra mediante torunda puede dar lugar al aislamiento de microorganismos colonizadores no relacionados con la infección.
- Deberán usarse torundas con medio de transporte.
- Lavar la superficie de la herida y desbridar si es necesario.
- Existen **diferentes técnicas** de toma de la muestra, pero las más clásicas son la técnica de **Levine** (presión en una zona del lecho de 1 cm² durante 5 segundos), y la técnica en **zig-zag**

(desplazamiento con rotación del hisopo por 10 puntos a través de todo el lecho de la herida, sin tocar esfacelo ni los bordes de la lesión). La técnica de Levine ha mostrado mayor fiabilidad porque tiene mayor concordancia microbiológica.

C. Biopsia

- Si existe sospecha de infección por micobacterias es preferible la obtención de la muestra mediante biopsia.
- Se debe introducir en un contenedor estéril con suero fisiológico.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- En caso de obtenerse mediante punción se recomienda la mayor cantidad posible.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo de bacterias y hongos es suficiente una muestra por herida.
- Para estudio adicional de micobacterias se enviará otra muestra independiente.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

A. Aspirados con agujas

- El contenedor debe enviarse al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Se pueden conservar a temperatura ambiente (máximo 72 horas).

B. Torundas

- Las torundas con medio de transporte se enviarán al laboratorio de microbiología antes de 2 horas. Si no es posible, se mantendrán a temperatura ambiente (máximo 72 horas).
- Las torundas con medio de transporte para virus se conservarán refrigeradas a 4°C durante un máximo de 72 horas.

C. Biopsias

- Pueden conservarse refrigeradas a 4°C durante un máximo de 72 horas.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán para cultivo aquellas muestras que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- Las torundas no son válidas para cultivo de micobacterias.

Comentarios

- El aislamiento de bacterias de la piel como estafilococos coagulasa negativos, *Cutibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp. o *Kocuria* spp. puede indicar contaminación del cultivo por recogida inadecuada de la muestra.
- Los resultados del cultivo deben evaluarse con precaución cuando la muestra se obtiene mediante torunda.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Es recomendable indicar en la petición la localización y los antecedentes relacionados con la herida: traumatismos, mordeduras, quemaduras, contacto con agua o carne, diabetes, etc.
- Si existe sospecha de infección por *Bacillus anthracis*, se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología de forma inmediata.

7.6. Exudado de úlcera vascular

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una úlcera vascular

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado absceso.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.
- Jeringa y aguja estéril.
- Contenedor estéril con tapón de rosca o vial específico para anaerobios tipo Portagerm[®].
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies.

Técnica para obtener la muestra

A. Aspiración con aguja

- Es el procedimiento de mayor rendimiento diagnóstico. Debe realizarse siempre que sea posible.
- Lavar la superficie de la herida con suero fisiológico estéril y desbridar si es necesario.
- Seleccionar el punto con mayor cantidad de tejido de granulación y sin necrosis.
- Pinchar desde fuera de la herida en la piel sana.
- La punción se realiza con aguja intramuscular en dirección hacia el borde de la herida.

- Aspirar 0,5/1 mL de contenido.
- Recoger el pus con jeringa y aguja aspirando de zonas profundas o de los bordes.
- Si la muestra es insuficiente o no existe pus, inyectar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y aspirarlo nuevamente con la jeringa.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril o vial específico tipo Portagerm[®].
- No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.

B. Frotis con torunda

- Las muestras recogidas con torunda **NO** son recomendables por tener menor cantidad de muestra y presentar mayor riesgo de contaminación con flora saprofita de la piel. La obtención de la muestra mediante torunda puede dar lugar al aislamiento de microorganismos colonizadores no relacionados con la infección.
- Deberán utilizarse torundas con medio de transporte.
- Lavar la superficie de la herida y desbridar si es necesario.
- Existen **diferentes técnicas** de toma de la muestra, pero las más clásicas son la técnica de **Levine** (presión en una zona del lecho de 1 cm² durante 5 segundos), y la técnica en **zig-zag** (desplazamiento con rotación del hisopo por 10 puntos a través de todo el lecho de la herida, sin tocar esfacelo ni los bordes de la lesión). La técnica de Levine ha mostrado mayor fiabilidad.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- En caso de obtenerse mediante punción, se recomienda la mayor cantidad posible.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

A. Aspirados con agujas

- El contenedor debe enviarse al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Se pueden conservar a temperatura ambiente (máximo 72 horas).

B. Torundas

- Las torundas con medio de transporte se enviarán al laboratorio de microbiología antes de 2 horas. Si no es posible, se mantendrán a temperatura ambiente (máximo 72 horas).
- Las torundas con medio de transporte para virus se conservarán refrigeradas a 4°C durante un máximo de 72 horas.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán para cultivo aquellas muestras que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.

Comentarios

- El aislamiento de bacterias de la piel como estafilococos coagulasa negativos, *Cutibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp. o *Kocuria* spp. puede indicar contaminación del cultivo por recogida inadecuada de la muestra.
- Los resultados del cultivo deben evaluarse con precaución cuando la muestra se obtiene mediante torunda.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.

- Para la correcta interpretación del cultivo bacteriano, se recomienda especificar en la petición la localización anatómica de la muestra y las características que presenta.
- Si existe sospecha de infección por *Bacillus anthracis*, se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología de forma inmediata.

8. MUESTRAS DE PIEL Y FANERAS

8.1. Pelo

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco.
- Cultivo de hongos dermatofitos.

Hongos con significado clínico que pueden aislarse en un pelo.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Hongos dermatofitos	<i>Microsporum canis</i> <i>Trichophyton tonsurans</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Trichophyton violaceum</i> <i>Microsporum audouinii</i> <i>Trichophyton verrucosum</i> <i>Trichophyton schoenleinii</i> <i>Trichophyton terrestre</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Alcohol etílico al 70%.
- Placa de Petri estéril o contenedor estéril de boca ancha y cierre hermético.
- Bisturí, cortauñas, tijeras o pinzas.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (lesiones exudativas).

Técnica para obtener la muestra

- Antes de realizar la recogida de la muestra, los pelos afectados deben limpiarse con alcohol para eliminar la flora bacteriana, exudación o restos de excipientes de tratamientos previos que dificultan el examen directo y el cultivo.
- En las tiñas del cuero cabelludo o de la barba es importante recoger los pelos parasitados, arrancándolos con la raíz intacta. Cortar los pelos es menos eficaz. En muchas ocasiones, los pelos parasitados se reconocen porque tienen una fluorescencia positiva con luz de Wood, están deslustrados, rotos, friables o se desprenden fácilmente con el raspado.
- Dependiendo del tipo de lesión observada, los pelos pueden recogerse mediante diferentes técnicas:

A. Tiñas microspóricas (*Microsporum canis*)

- Se reconocen por presentar una placa escamosa blanquecina con escasa o nula inflamación, que puede alcanzar varios centímetros de diámetro, y en la cual se observan pelos rotos a 5-10 mm de la superficie cutánea. Estos pelos parasitados son friables y se arrancan con facilidad al raspar con el bisturí.

B. Tiñas tricofíticas antropofílicas (*Trichophyton tonsurans*)

- Forman pequeñas placas escamosas con pelos de poca longitud, en forma de W o Z, situados en el espesor de la escama o bien rotos al nivel de la superficie dando un aspecto de puntos negros, casi siempre en ausencia de inflamación. Estos puntos negros son los que deben extraerse con la punta del bisturí o con pinzas.

C. Tiñas tricofíticas zoofílicas (*Trichophyton mentagrophytes*)

- Se observan placas escamosas de tamaño variable, que se inflaman y se elevan sobre la superficie cutánea, apareciendo numerosas pústulas foliculares que originan un Kerion. Los pelos situados en la placa tienen una longitud variable pudiéndose extraer con facilidad sin causar dolor al paciente.

D. Tiña favosa (*Trichophyton schoenleinii*)

- Presenta costras amarillentas, cóncavas y centradas por un pelo, denominadas escútuas o cazoletas fávicas. Están formadas por un conglomerado de hifas que originan una foliculitis y con el tiempo alopecia cicatricial por destrucción de la matriz. La muestra de estas lesiones debe ser tomada con asa (el pus folicular) y cucharilla (las cazoletas).
- Algunos autores recomiendan que en las lesiones de tiña tricofítica, en las cuales se encuentran mezclados pelos sanos y enfermos, es útil cortar 20 a 30 pelos a una altura de 1 cm y, posteriormente depositarlos en una placa de Petri.
- Las lesiones inflamatorias con exudación se frotarán con una torunda con medio de transporte.

Volumen o cantidad necesaria

- Es suficiente una mínima cantidad de pelos afectados.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra.
- Antes de realizar la toma de la muestra es necesario asegurarse de que no se haya administrado ningún fármaco antifúngico tópico o sistémico, al menos en los 4 días previos.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras no precisan medidas especiales de conservación hasta su procesamiento.
- Las muestras se enviarán en una placa de Petri precintada con papel celofán o en un contenedor estéril de boca ancha herméticamente cerrado.
- Las torundas se enviarán al laboratorio lo antes posible y a temperatura ambiente.

Muestras inadecuadas

- Se deben evitar los hisopos, siempre que el tipo de lesión lo permita.
- El frío inhibe el crecimiento de los hongos dermatofitos. No se deben refrigerar las muestras.

Comentarios

- Se recomienda especificar la localización de la lesión, las características de la misma, datos epidemiológicos de interés y el diagnóstico clínico presuntivo.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento antifúngico previo, se indicará en la petición.
- Un resultado negativo del examen en fresco no descarta la infección.
- El crecimiento en cultivo de los hongos dermatofitos es tardío (5-21 días).
- Valorar la posibilidad de que exista una sobreinfección bacteriana. En tal caso, se recomienda solicitar cultivo bacteriano independiente.

8.2. Raspado cutáneo

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco.
- Cultivo de hongos.

Hongos con significado clínico que pueden aislarse en un raspado cutáneo.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Hongos no dermatofitos	<i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida krusei</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida dublinensis</i>
Hongos dermatofitos	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Microsporum canis</i> <i>Trichophyton tonsurans</i>	<i>Trichophyton terrestre</i> <i>Trichophyton rubrum</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Alcohol etílico al 70%.
- Placa de Petri estéril o contenedor estéril de boca ancha y cierre hermético.
- Bisturí.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (lesiones exudativas).

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la lesión con alcohol.
- En las muestras de piel se recomienda si la lesión es seca raspar el borde de la lesión con un bisturí o moqueta, recogiendo las escamas en una placa de Petri o en un contenedor estéril.

- En las lesiones intertriginosas pueden obtenerse escamas raspando con un bisturí.
- Si la lesión es exudativa se puede frotar con una torunda con medio de transporte.
- Si se sospecha de pitiriasis versicolor, adherir cinta adhesiva de varias zonas de la piel para observación directa al microscopio. Se puede raspar varias lesiones sobre placa de Petri.

Volumen o cantidad necesaria

- No es necesario gran cantidad de muestra para el procesamiento.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente el envío de una muestra al laboratorio.
- Antes de realizar la toma de la muestra es necesario asegurarse de que no se haya administrado ningún fármaco antifúngico tópico o sistémico, al menos en los 4 días precedentes.

Transporte y conservación de las muestras

- Las escamas se enviarán sin carácter de urgencia, no siendo necesarias medidas especiales de conservación hasta su procesamiento.
- Las torundas se deben enviar al laboratorio de microbiología lo antes posible y a temperatura ambiente.

Muestras inadecuadas

- Se deben evitar los hisopos, siempre que el tipo de lesión lo permita.
- No se deben refrigerar las muestras. **El frío inhibe el crecimiento de los hongos dermatofitos.**

Comentarios

- Se recomienda especificar la localización de la lesión y las características de la misma.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento antifúngico previo, se indicará en la petición.
- Un examen en fresco negativo no descarta la infección.
- El crecimiento en cultivo de los hongos dermatofitos es tardío (5-21 días).

8.3. Uña

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco.
- Cultivo de hongos.

Hongos con significado clínico que pueden aislarse en una uña.

Onicomicosis	Frecuentes	Menos frecuentes
Distal y lateral subungueal	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Scytalidium dimidiatum</i> <i>Scopulariopsis</i> spp.
Proximal subungueal	<i>Candida</i> spp. <i>Trichophyton rubrum</i>	
Blanca superficial	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Fusarium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.
Distal y lateral con paroniquia crónica	<i>Candida</i> spp.	
Distrófica total	<i>Candida</i> spp. <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Alcohol etílico al 70%.
- Placa de Petri estéril o contenedor estéril de boca ancha con cierre hermético.
- Bisturí, corta uñas, tijeras o alicates (uñas hiperqueratósicas).
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (perionixis, onicolisis).

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la uña con alcohol.
- **En las micosis ungueales**, cuando la superficie externa de la uña está intacta, la muestra se obtiene raspando con el bisturí por debajo del borde ungueal, recogiendo el material en una placa de Petri o en un contenedor estéril. Si es posible se cortarán fragmentos finos de la uña afectada.
- **En la perionixis** se recogerá el exudado con una torunda y se obtendrán escamas raspando la superficie ungueal y la piel periungueal.
- **En la onicomiosis distal y lateral subungueal** aparecen una uñas hiperqueratósicas por lo que los alicates son esenciales para recoger el material subungueal. Se deben cortar fragmentos de la parte más proximal de la uña. Es la parte menos accesible pero la que presenta los elementos fúngicos más jóvenes y viables.
- **En la onicomiosis proximal subungueal** se debe recoger el material blanquecino de la porción más profunda de la tabla ungueal.
- **En la onicomiosis blanca superficial** se raspará con un bisturí la superficie afectada.
- **En la onicolisis distal y lateral** con paroniquia crónica se recogerá el material ungueal más cercano a la cutícula, raspando con el bisturí en la profundidad del surco periungueal. Con torunda o asa estéril se recogerá el pus de la paroniquia acompañante tras incisión con bisturí.
- **En la onicomiosis distrófica total** se debe raspar preferentemente el material subungueal.

Volumen o cantidad necesaria

- Es variable dependiendo del lugar afectado.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente el envío de una muestra.
- Antes de realizar la toma de la muestra es necesario asegurarse de que no se haya administrado ningún fármaco antifúngico tópico o sistémico, al menos en los 4 días previos.

Transporte y conservación de las muestras

- Enviar la muestra al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Conservar la muestra a temperatura ambiente.

Muestras inadecuadas

- No enviar la uña.
- Se deben evitar los hisopos, siempre que el tipo de lesión lo permita.
- El frío puede inhibir el crecimiento de los hongos dermatofitos. Las muestras no se deben refrigerar.

Comentarios

- Se recomienda especificar en la petición la localización de la lesión, las características de la misma, datos epidemiológicos de interés y el diagnóstico clínico presuntivo.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento antifúngico previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Un resultado negativo del examen en fresco no descarta la infección.
- El crecimiento de los hongos dermatofitos en cultivo es tardío (5-21 días).

9. MUESTRAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

9.1. Heces

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- Detección directa de antígenos virales (Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, Astrovirus).
- Examen en fresco (estudio de parásitos).
- Tinción para estudio de *Cryptosporidium parvum*.
- Detección de antígeno de *Helicobacter pylori*.
- Detección de toxinas de *Clostridioides difficile*.
- PCR múltiple (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en las heces.

Microorganismos	Diarrea no inflamatoria	Diarrea inflamatoria
Bacterias	<i>Aeromonas</i> spp. <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Escherichia coli</i> (enterotoxigénico, enteropatógeno)	<i>Campylobacter</i> spp. <i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Clostridioides difficile</i> <i>Escherichia coli</i> (enterohemorrágico o enteroinvasivo) <i>Aeromonas</i> spp <i>Plesiomonas shigelloides</i>
Virus	Rotavirus Norovirus Astrovirus	Adenovirus
Parásitos	<i>Giardia intestinalis</i> <i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Strongyloides stercoralis</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Recipiente (orinal, cuña o similar) limpio.
- Cucharilla o similar.
- Contenedor estéril de boca ancha y cierre hermético.
- Contenedor con medio de transporte para estudio de parásitos.

Técnica para obtener la muestra

- **Heces formadas o pastosas:** Se recogerá con una cucharilla una pequeña porción de heces recién emitidas en un contenedor estéril con cierre hermético. Se elegirán aquellas porciones que contengan sangre, moco o pus.
- **Heces líquidas:** de igual modo se transferirán a un contenedor estéril con cierre hermético.
- Solo en aquellos casos en los que no sea posible obtener muestra de heces (neonatos, íleo, megacolon tóxico o distensión abdominal sin diarrea) se puede aceptar una muestra rectal recogida con torunda. En estos casos se introduce el hisopo sobrepasando el esfínter anal, se rota durante 10-30 segundos y se introduce en el medio de transporte correspondiente.

Volumen o cantidad necesaria

- **Heces formadas o pastosas:** al menos 2 gramos (tamaño de una nuez).
- **Heces líquidas:** entre 5 y 10 mL.
- Si se utilizan contenedores con medio de transporte para estudio de parásitos se deben seguir las instrucciones facilitadas por el fabricante.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para el estudio bacteriológico, virológico y de toxinas de *Clostridioides difficile* es suficiente una muestra.

- Para el estudio parasitológico se recogerá la primera muestra de heces emitida en el día. Se enviarán 3 muestras recogidas en 3 días consecutivos.
- La muestra se recogerá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras deben enviarse al laboratorio lo antes posible.
- Para el estudio de bacterias, virus y toxinas de *Clostridioides difficile* las muestras deben conservarse refrigeradas (2-8°C) hasta su envío al laboratorio. En el caso de investigación de toxinas de *C. difficile* la muestra deberá remitirse en menos de 24 horas.
- Para estudio de parásitos las muestras deben conservarse a temperatura ambiente.

Muestras inadecuadas

- Muestras contaminadas con orina.
- Se evitará cualquier resto de jabón, detergente o desinfectante en el recipiente.
- Heces que no hayan sido refrigeradas (excepto para estudio de parásitos).
- Muestras envueltas en papel de aluminio.
- No son válidas las 3 muestras recogidas el mismo día para estudio de parásitos.
- Las muestras remitidas en medio de transporte para estudio de parásitos no son útiles para cultivo bacteriano ni para detección de antígenos virales.
- Se rechazarán las heces no diarreicas, excepto cuando se solicite expresamente investigación de portadores de *Salmonella* spp., detección de antígeno de *Helicobacter pylori*, sospecha de *Yersinia* spp. por dolor abdominal y/o artritis, y estudio de parásitos.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento antibiótico previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Si existe antecedente de viaje, es recomendable indicar el destino del mismo.
- Si el enfermo es inmigrante es aconsejable especificar el país de origen.
- Indicar siempre el diagnóstico de presunción y la edad del enfermo.
- Para estudio de virus (detección de antígenos) las heces deben ser líquidas.
- Es conveniente evitar, especialmente para estudios parasitológicos, la utilización previa de antiácidos, laxantes oleosos y compuestos utilizados para estudios radiológicos digestivos.
- Para la investigación de parásitos se recomienda que el paciente no ingiera verduras, frutas, legumbres, patatas, arroz, huevos, pastas, hígado y sesos en los 3 días previos al estudio.
- Cuando se observen formas compatibles con parásitos en la zona anal o en las heces, se recogerán en recipiente estéril y se añadirá una pequeña cantidad de suero fisiológico estéril.
- La presencia en heces de *Candida* spp., *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* no tiene significado clínico.
- Parásitos causantes de infección (en general) asintomática: *Taenia* spp., *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana*.
- En caso de brotes, es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología de forma inmediata.
- La serología tiene escasa utilidad para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales. Puede estar indicado cuando exista sospecha de infección por *Yersinia enterocolitica* y *Entamoeba histolytica*.

9.2. Test de Graham

Procedimiento microbiológico más habitual

- Examen en fresco para la visualización de huevos.

Microorganismos que pueden observarse

- *Enterobius vermicularis* (oxiuros).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Papel celo transparente.
- Portaobjetos de vidrio.
- Sobre de papel o contenedor estéril de boca ancha.

Técnica para obtener la muestra

- Lavar el ano por la noche.
- A la mañana siguiente (antes de que el paciente se lave, orine o defaque), con una cinta de celo transparente corta (que no supere la longitud del portaobjetos), presionar los márgenes anales por la cara adhesiva del celo.
- Adherir el celo sobre una de las caras del portaobjetos bien estirado y sin arrugas.

Volumen o cantidad necesaria

- Tres portaobjetos de cristal tomados en 3 días consecutivos.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recogerán 3 muestras de 3 días consecutivos.
- Por la noche la hembra del parásito deposita los huevos en los márgenes del ano, por lo que la toma se realizará a primera hora de la mañana.
- La persona que realice la toma de muestra debe lavarse las manos antes y después de la toma, ya que los huevos son muy infectivos.

Transporte y conservación de las muestras

- Se enviarán los portaobjetos en el interior de un sobre al laboratorio de microbiología.
- Conservar la muestra a temperatura ambiente.

Muestras inadecuadas

- Papel celofán que no sea transparente, con restos de heces o arrugado.
- Portaobjetos con el celo pegado en las dos caras.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento antiparasitario previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento antiparasitario.

9.3. Jugo gástrico

Procedimiento microbiológico más habitual

- Cultivo de micobacterias (niños y adultos que no expectoren).

Microorganismos con significado clínico que pueden detectarse en un jugo gástrico.

Microorganismos	
Micobacterias	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Micobacterias atípicas ¹

¹Pueden no tener valor clínico.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- La muestra debería obtenerse a primera hora de la mañana tras un periodo de ayuno de 8 horas.
- Introducir la sonda en el estómago por vía oral o nasal.
- Realizar un lavado con 25-50 mL de agua destilada estéril.
- Aspirar la muestra e introducirla en un contenedor estéril con cierre hermético.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es necesario tres muestras obtenidas en días consecutivos.
- Volumen mínimo: 5-10 mL.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra sin neutralizar debe ser enviada inmediatamente.
- Muestra neutralizada con bicarbonato: debe ser enviada antes de 24 horas refrigerada (4°C).

Comentarios

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

9.4. Aspirado gástrico y duodenal

Procedimiento microbiológico más habitual

- Examen de parásitos.

Parásitos que pueden detectarse en un aspirado duodenal.

Aspirado gástrico	Aspirado duodenal
<i>Anisakis</i> spp.	<i>Giardia intestinalis</i> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Trichuris trichura</i> <i>Anisakis</i> spp.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Tubo de lavado gástrico.
- Recipientes estériles de boca ancha.
- Contenedor especial con líquido conservante para parásitos.

Técnica para obtener la muestra

- **Aspirado gástrico:**

- Procedimiento similar al realizado en la obtención de jugo gástrico.

- **Aspirado duodenal:**

- Introducir el tubo a través de la boca hasta alcanzar el duodeno y aspirar.
- Para la búsqueda de *Giardia intestinalis* es necesario llegar a la tercera porción del duodeno.

Número de muestras y momento de la extracción

- Volumen mínimo: 0,5-3 mL.

Transporte y conservación de las muestras

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

Comentarios

- El cultivo bacteriológico del aspirado gástrico y duodenal sólo tiene interés para la detección de sobrecrecimiento bacteriano. Tiene escasa utilidad clínica.

9.5. Biopsia gástrica

Procedimiento microbiológico más habitual

- Cultivo bacteriano.

Microorganismo que puede detectarse en una biopsia gástrica

- *Helicobacter pylori*

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Endoscopio y material complementario.
- Contenedor estéril con tapón de rosca.

Técnica para obtener la muestra

- Introducir el endoscopio por la cavidad oral y recoger la biopsia mediante pinzas, cepillado reiterado o lavado (25-30 mL de solución salina) con posterior aspiración del material.
- 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.
- Remitir las muestras en contenedor estéril y añadir suero fisiológico para evitar la desecación.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda recoger varias muestras en un solo contenedor.

Transporte y conservación de las muestras

- Es necesario enviar las muestras de forma inmediata.
- El procesamiento debe realizarse antes de la primera hora desde su obtención.

10. MUESTRAS ABDOMINALES

10.1. Bilis

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo de bacterias aerobias y anaerobias.
- Cultivo de hongos.
- Estudio de parásitos (en casos concretos).
- Cultivo de micobacterias (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en la bilis.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias aerobias	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus</i> spp. Estreptococos del grupo <i>viridans</i>	<i>Salmonella</i> spp.
Bacterias anaerobias	<i>Clostridium</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Finegoldia magna</i> <i>Peptoniphilus</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp.	<i>Fusobacterium</i> spp. <i>Prevotella</i> spp. <i>Parabacteroides</i> spp.
Hongos	<i>Candida</i> spp.	
Parásitos		<i>Fasciola hepática</i> <i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Echinococcus granulosus</i> <i>Strongyloides</i> spp.
Micobacterias		<i>Mycobacterium avium</i> complex

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles.
- Guantes estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70% .
- Povidona yodada.
- Clorhexidina 2%.
- Aguja y jeringa.
- Bote estéril de cierre hermético o vial específico tipo Portagerm®.
- Frascos de hemocultivos (aerobio y anaerobio). Opcional.

Técnica para obtener la muestra

- Desinfectar la piel con alcohol etílico o isopropílico al 70% de forma concéntrica comenzando por el centro y abarcando una zona de unos 10 cm.
- Aplicar povidona yodada y dejar secar durante unos minutos. En pacientes con hipersensibilidad al yodo se utilizará alcohol 2 veces consecutivas.
- Obtener la muestra por aspiración percutánea con aguja y jeringa (colecistostomía percutánea) o por aspiración mediante procedimientos quirúrgicos o endoscópicos.
- De forma aséptica, transferir la muestra a un bote estéril de cierre hermético o bien a un vial específico tipo Portagerm® (preferible).
- Adicionalmente, se puede inocular parte de la muestra en dos frascos de hemocultivos (aerobio y anaerobio). La inoculación se realiza con jeringa y aguja previa desinfección del tapón de goma con clorhexidina al 2%. Los frascos de hemocultivos deben acompañarse siempre de una muestra enviada en bote estéril.
- Una vez realizada la toma percutánea retirar la povidona yodada de la piel con un apósito impregnado en alcohol etílico o isopropílico al 70%.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda obtener la mayor cantidad de muestra posible. Según la sospecha, los volúmenes mínimos requeridos son:
 - Bacterias: 1-10 mL
 - Hongos: >10 mL
 - Micobacterias: >10 mL
- En los frascos de hemocultivo se debe inocular el mayor volumen de bilis posible hasta un máximo de 10 mL por frasco.
- Siempre que sea posible, las muestras para estudio microbiológico deben recogerse antes del inicio de tratamiento antibiótico.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología lo más rápidamente posible y a temperatura ambiente.
- Dependiendo del volumen y del contenedor de la muestra, los tiempos de transporte son los siguientes:
 - Muestra en bote estéril sin medio de transporte para anaerobios:
 - Menos de 1 mL: ≤ 10 minutos.
 - Aproximadamente 1 mL: ≤ 30 minutos.
 - Más de 2 mL: \leq de 3 horas.
- Muestra en vial con medio de transporte para anaerobios (tipo Portagerm[®]): \leq de 3 horas.

Comentarios

- Cuando se utilice anestesia local, hay que cambiar de jeringa y aguja para hacer la extracción de la muestra, porque los anestésicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano.
- No se deben utilizar jeringas heparinizadas ya que interfieren en la viabilidad de los microorganismos.
- No se deben enviar jeringas con aguja por el riesgo de pinchazos.
- El aislamiento de bacterias de la piel como estafilococos coagulasa negativos, *Cutibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp. o *Kocuria* spp. puede indicar contaminación del cultivo por recogida inadecuada de la muestra.

10.2. Líquido peritoneal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo de bacterias aerobias y anaerobias.
- Cultivo de hongos.
- Estudio de parásitos (en casos concretos).
- Cultivo de micobacterias (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un líquido peritoneal.

Peritonitis primaria (monomicrobianas)			
<p>Adultos</p> <p>Patógenos entéricos facultativos: <i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i></p> <p>Menos frecuentes: Estreptococos del grupo <i>viridans</i></p> <p>Origen nosocomial: <i>Enterococcus</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas</i> spp.</p>		<p>Niños</p> <p>Cocos grampositivos: <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Menos frecuentes: <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> Otras enterobacterias</p>	
Peritonitis secundaria (polimicrobianas y mixtas) Según el foco			
<p>Estómago: <i>Lactobacillus</i> spp.</p>	<p>Duodeno, yeyuno: <i>Streptococcus</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. Enterobacterias</p>	<p>Íleon terminal: <i>Streptococcus</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. Enterobacterias <i>Bacteroides</i> spp.</p>	<p>Colon: <i>Bacteroides</i> spp. <i>Prevotella</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. Enterobacterias <i>Enterococcus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Candida</i> spp.</p>
Peritonitis terciaria			
<p>Enterobacterias, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Acinetobacter baumannii</i>, <i>Enterococcus faecium</i>, <i>Staphylococcus</i> spp. y <i>Candida</i> spp.</p>			
Peritonitis tuberculosa			
<p><i>Mycobacterium tuberculosis</i>, <i>Mycobacterium avium complex</i>, <i>Mycobacterium fortuitum</i>, <i>Mycobacterium kansasii</i> y <i>Mycobacterium gordonae</i>.</p>			
Peritonitis en diálisis peritoneal (monomicrobiana)			
<p>Estafilococos coagulasa negativos (<i>S. epidermidis</i>), <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Streptococcus</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>			

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles.
- Guantes estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70% .
- Povidona yodada.
- Clorhexidina 2%.
- Aguja.
- Jeringa.
- Solución Ringer lactato.
- Bote estéril de cierre hermético.
- Vial con medio de transporte para anaerobios tipo Portagerm®.
- Frascos de hemocultivos (aerobio y anaerobio). Opcional.

Técnica para obtener la muestra

- Desinfectar la piel con alcohol etílico o isopropílico al 70% de forma concéntrica comenzando por el centro y abarcando una zona de unos 10 cm.
- Aplicar povidona yodada y dejar secar durante unos minutos. En pacientes con hipersensibilidad al yodo se utilizará alcohol 2 veces consecutivas.
- Obtener la muestra por aspiración percutánea (paracentesis) con aguja y jeringa o mediante procedimientos quirúrgicos (cirugía abierta o vía laparoscópica). Si el volumen a aspirar es pequeño realizar un lavado de la cavidad con solución Ringer lactato.
- Inocular la muestra en un vial con medio de transporte para anaerobios (tipo Portagerm®) o en un bote estéril de cierre hermético (peor rendimiento).
- Existe la opción de inocular la muestra en dos frascos de hemocultivos (aerobio y anaerobio) con jeringa y aguja, previa desinfección del tapón de goma con clorhexidina al 2%.

- Una vez realizada la toma percutánea retirar la povidona yodada de la piel con un apósito impregnado en alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Ver apartado líquido de diálisis peritoneal para consultar cómo se realiza la toma de la muestra.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Según el tipo de infección:
 - **Peritonitis primaria:** recoger un volumen mínimo de 25 mL. Inocular 10 mL en cada frasco de hemocultivos (aerobio y anaerobio) y al menos 0,5-1 mL en un tubo estéril.
 - **Peritonitis secundaria y terciaria:** aspirar la mayor cantidad posible de muestra e inocularla directamente en un vial con medio de transporte para anaerobios o en un bote estéril de cierre hermético (peor rendimiento).
 - **Peritonitis tuberculosa:** 10-50 mL en bote estéril de cierre hermético.
 - **Líquido efluente de diálisis peritoneal:** ver apartado correspondiente.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología lo más rápidamente posible y a temperatura ambiente.
- Dependiendo del volumen y del contenedor de la muestra, los tiempos de transporte son los siguientes:
 - Muestra en contenedor sin medio de transporte de anaerobios:
 - Menos de 1 mL: ≤ 10 minutos.
 - Aproximadamente 1 mL: ≤ 30 minutos.
 - Más de 2 mL: \leq de 3 horas.
 - Muestra en medio de transporte de anaerobios: \leq de 3 horas.

Comentarios

- Siempre que sea posible, las muestras para estudio microbiológico deben recogerse antes del inicio de tratamiento antibiótico
- Cuando se utilice una anestesia local, hay que cambiar de jeringa y aguja para hacer la extracción de la muestra porque los anestésicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano.
- No se deben utilizar jeringas heparinizadas ya que interfieren en la viabilidad de los microorganismos.
- No se deben enviar jeringas con aguja por el riesgo de pinchazos.

11. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO

11.1. Exudado endocervical

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR genital múltiple.
- PCR viral específica.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado endocervical.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> ¹	<i>Mycoplasma genitalium</i> ¹ <i>Ureaplasma urealyticum</i> ¹ <i>Mycoplasma hominis</i> ¹
Hongos	<i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i>	<i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i>
Virus	Virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH 16, 18) ¹ Virus herpes simple ¹	Virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico (VPH 6, 11) ¹

¹Se detectan mediante PCR.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.

- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano).
- Torunda de dacron (PCR genital múltiple)
- Medio de transporte para virus (PCR específica de virus).
- El medio de transporte Amies líquido es compatible con todas las determinaciones.

Técnica para obtener la muestra

- Introducir un espéculo sin lubricante con la paciente en posición ginecológica.
- Limpiar las secreciones vaginales del exocérvix con una torunda seca de algodón.
- Bajo visión directa se comprimirá cuidadosamente el cérvix con las palas del espéculo y se introducirá la torunda de dacron en el canal endocervical, rotándola en su interior.
- Extraer la torunda sin tocar los bordes e introducirla en el tubo con medio de transporte.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una torunda con medio de transporte para cultivo bacteriano y de hongos.
- Para realizar PCR genital múltiple se precisa otra muestra independiente.
- Para la detección específica de virus mediante PCR se enviará una torunda independiente.
- Las muestras deben obtenerse antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Todas las muestras se deben enviar al laboratorio lo antes posible, especialmente si existe sospecha de infección por *Neisseria gonorrhoeae*.
- Las muestras para cultivo bacteriano se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24 horas).
- Las muestras para PCR se conservarán refrigeradas a 4°C (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano y de hongos que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración.
- La viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* es muy limitada (6-8 horas).
- El virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico es la causa del cáncer de cérvix.
- El virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico produce verrugas genitales (condiloma acuminado). Su presencia en endocervix es infrecuente y de difícil diagnóstico.
- El aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* tiene un valor dudoso.
- El aislamiento de *Ureaplasma parvum* carece de valor porque es saprofito.

11.2. Exudado rectal/anal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos (perianal)
- PCR específica de virus (solo si hay lesiones compatibles)
- PCR genital múltiple (ver apartado úlcera genital).
- Estudio de portadores de bacterias multirresistentes (ver apartado correspondiente).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado rectal/anal.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Treponema pallidum</i> ¹ <i>Chlamydia trachomatis</i> ¹ Bacterias multirresistentes ² <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i>
Hongos	<i>Candida</i> spp.	
Virus	Virus herpes simple Virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH 16, 18)	Virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico (VPH 6, 11)

¹Ver apartado úlcera genital. ²Ver apartado portadores de microorganismos multirresistentes.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos).
- Medio de transporte para virus (PCR específica de virus).
- Torunda de dacron (PCR genital múltiple).

Técnica para obtener la muestra

- **Exudados rectales:** introducir la torunda suavemente a través del esfínter anal y rotar.
- **Exudados anales:** introducir la torunda en el ano y rotar varias veces.
- **Exudados perianales:** rotar la torunda sobre los márgenes del ano sin introducirla.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una muestra para cultivo bacteriano y de hongos.
- Para PCR genital múltiple se precisa otra muestra independiente.
- Si existe sospecha de infección por virus se enviará una torunda independiente.

- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras para cultivo bacteriano y de hongos se mantendrán a temperatura ambiente (máximo 24 horas).
- Las muestras para PCR genital múltiple o de virus se conservarán refrigeradas a 4°C (máximo 72 horas).
- Todas las muestras se deben enviar al laboratorio lo antes posible.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano y de hongos que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará junto a la duración del mismo.
- Si existe sospecha de infección por *Neisseria gonorrhoeae* la muestra debe enviarse rápidamente y sembrarse de forma muy urgente.
- Los virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico se asocian a cáncer anal.
- Los virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico producen verrugas genitales (condiloma acuminado). La localización anal es infrecuente.

11.3. Exudado uretral femenino

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco (*Trichomonas vaginalis*).
- Tinción de Gram
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR genital múltiple.
- PCR viral específica.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado uretral.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> ¹	<i>Neisseria meningitidis</i> <i>Mycoplasma genitalium</i> ¹ <i>Ureaplasma urealyticum</i> ¹ Enterobacterias <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Treponema pallidum</i>
Hongos	<i>Candida</i> spp.	
Parásitos		<i>Trichomonas vaginalis</i>
Virus		Virus del papiloma humano ¹ Virus herpes simple ¹

¹Se detectan mediante PCR.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda fina con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos).
- Torunda de dacron (PCR genital).
- Medio de transporte para virus (PCR viral específica).
- Gasas estériles.

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la zona periuretral con una gasa estéril.
- Introducir la torunda unos 2 cm en la uretra.
- Girar la torunda en sentido antihorario 2-3 veces.

Número de muestras y momento de la extracción

- La muestra debe recogerse antes de la primera micción de la mañana. Si no es posible, se deberá esperar al menos dos horas tras la última micción para recogerla.
- Se recomienda una torunda para cultivo bacteriano y de hongos.
- Para realizar PCR genital múltiple se precisa otra muestra independiente.
- Para la detección específica de virus mediante PCR se enviará una torunda independiente.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras para cultivo bacteriano y de hongos se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24 horas).
- Las muestras para PCR se conservarán refrigeradas a 4°C (máximo 72 horas).
- Todas las muestras se deben enviar al laboratorio lo antes posible, especialmente si existe sospecha de infección por *Neisseria gonorrhoeae* y se solicita cultivo bacteriano.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano y de hongos que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- La viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* es limitada. No puede garantizarse tras 6-8 horas.
- Los bacilos gramnegativos (enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*) producen uretritis en enfermos sondados, inmunodeprimidos, diabéticos, homosexuales y enfermos con patologías urológicas (estenosis).
- El diagnóstico de la uretritis candidiásica es difícil de realizar porque *Candida* spp. puede aislarse en la uretra de mujeres sanas. La observación de pseudomicelios en la tinción de Gram puede ser un criterio de patogenicidad.
- La infección uretral por el virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico se asocia a verrugas en la uretra distal (condiloma acuminado).
- La infección uretral por el virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico es muy infrecuente en mujeres.
- Si existe sospecha de uretritis por *Trichomonas vaginalis* puede ser de utilidad recoger una muestra de exudado vaginal para realizar examen en fresco.

11.4. Exudado vaginal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco (*Trichomonas vaginalis*).
- Tinción de Gram (vaginosis bacteriana).
- Cultivo bacteriano aerobio (en niñas).
- Cultivo de hongos.
- PCR genital múltiple.
- PCR viral específica (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado vaginal.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> ¹ <i>Mycoplasma genitalium</i> ¹
Flora bacteriana polimicrobiana aerobia y anaerobia (vaginosis bacteriana)	<i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Mycoplasma hominis</i> ¹ <i>Prevotella</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp.	<i>Mobiluncus</i> spp.
Hongos	<i>Candida</i> spp.	
Parásitos	<i>Trichomonas vaginalis</i>	
Virus		Virus del papiloma humano ¹ Virus herpes simple ¹

¹Se detectan mediante PCR.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos)
- Torunda de dacron (PCR genital múltiple)
- Medio de transporte para virus (PCR viral específica).

Técnica para obtener la muestra

- Introducir el espéculo sin lubricante con la paciente en posición ginecológica.
- Con la torunda realizar un frotis de la zona de mayor exudado o en su defecto del fondo de saco vaginal posterior.
- Si la toma se realiza para estudio de portadora de *Streptococcus agalactiae*, la muestra se recogerá sin espéculo y antes de cualquier manipulación ginecológica.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una torunda para realizar tinción de Gram, cultivo bacteriano y de hongos.
- Para realizar PCR genital múltiple se precisa otra muestra independiente.
- Para la detección específica de virus mediante PCR se enviará una torunda independiente.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Para tinción de Gram y cultivo bacteriano y de hongos, las muestras se mantendrán a 37°C y si no es posible se conservarán a temperatura ambiente (máximo 24-72 horas).
- Las muestras para PCR se conservarán refrigeradas a 4°C (máximo 72 horas).
- Todas las muestras se deben enviar al laboratorio lo antes posible.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano o de hongos que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- En los días previos a la obtención de la muestra no deben utilizarse soluciones antisépticas, óvulos o pomadas. Si se han utilizado, se hará constar en la petición.
- El diagnóstico microbiológico de vaginosis bacteriana se realiza mediante tinción de Gram. Para completar el diagnóstico es de utilidad la detección del pH vaginal y la producción de aminas volátiles por adicción de KOH al 10%. El flujo vaginal es característico: grisáceo, adherido a la pared vaginal y maloliente (olor a pescado). Es imprescindible indicar la edad para la correcta interpretación de la tinción de Gram.
- Es importante indicar en la petición si se trata de una niña, mujer gestante o puérpera.
- Si existe sospecha de vaginitis por *Trichomonas vaginalis* es recomendable comunicarlo al laboratorio de microbiología. Su detección puede realizarse rápidamente mediante examen en fresco. Existe la posibilidad de realizar cultivo pero resulta más tardío.
- El principal reservorio de *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, virus herpes y virus del papiloma humano en el tracto genital femenino es el endocérvix y no la vagina. **El exudado vaginal no es la muestra más adecuada para el estudio de estos microorganismos.**
- La presencia de *Candida* spp. no indica necesariamente la existencia de vaginitis. El 25% de las mujeres sanas son portadoras asintomáticas de *Candida* spp. La presencia de levaduras con pseudomicelio en la tinción de Gram puede ser un criterio de patogenicidad.

11.5. Exudado vulvar

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y de hongos.
- PCR genital múltiple (ver apartado úlcera genital).
- PCR viral específica.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado vulvar.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Treponema pallidum</i> ¹ <i>Haemophilus ducreyi</i> ¹
Hongos	<i>Candida</i> spp.	
Virus	Virus herpes simple Virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico (VPH 6, 11)	Virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH 16, 18)

¹Se detectan mediante PCR. Ver apartado úlcera genital.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Camilla ginecológica.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Agua estéril, jeringa y aguja estéril.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos).
- Torunda de dacron (PCR genital múltiple).
- Medio de transporte para virus (PCR específica de virus).

Técnica para obtener la muestra

- Utilizar alcohol para desinfectar la piel y agua estéril para las mucosas.
- Realizar frotis de las lesiones.
- Si hay abscesos, aspirar con una jeringa e inocular el contenido en un contenedor estéril.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una muestra para cultivo bacteriano y de hongos.
- Para realizar PCR genital múltiple se precisa otra muestra independiente.
- Para la detección específica de virus mediante PCR se enviará una torunda independiente.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras para cultivo bacteriano y de hongos se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24-72 horas).
- Las muestras para PCR se conservarán refrigeradas a 4°C (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano o de hongos que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- En los días previos a la obtención de la muestra no deben utilizarse soluciones antisépticas.

- La infección vulvar por el virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico produce verrugas genitales (condiloma acuminado). Los genotipos de alto riesgo oncogénico se asocian a cáncer vulvar (infrecuente).

11.6. Úlcera genital

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano y de hongos
- PCR genital múltiple.
- PCR viral específica.

Microorganismos con significado clínico que pue

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Treponema pallidum</i> ¹ <i>Staphylococcus aureus</i> ² <i>Streptococcus agalactiae</i> ²	<i>Haemophilus ducreyi</i> ¹ <i>Chlamydia trachomatis</i> serogrupo L1, L2, L3 ¹ (linfogramuloma venéreo) <i>Streptococcus pyogenes</i>
Hongos	<i>Candida</i> spp.	
Virus	Virus herpes simple ¹	Citomegalovirus ¹ Virus varicela zóster ¹

¹Se detectan mediante PCR. ²En casos de sobreinfección bacteriana.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Guantes y gasas estériles.
- Suero salino estéril.

- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Jeringa con aguja estéril.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Aimes (cultivo bacteriano y de hongos).
- Torunda de dacron (PCR genital múltiple).
- Medio de transporte para virus (PCR viral específica).

Técnica para obtener la muestra para cultivo bacteriano y de hongos

- Se limpiará la superficie de la lesión con gasas humedecidas con suero salino.
- Se evitará el uso de jabón.
- Con una gasa seca se frota suavemente la lesión hasta que se obtenga el fluido.
- Aspirar el fluido con una jeringa y aguja estéril. Introducir contenido en contenedor estéril.
- Si no es posible realizar el procedimiento anterior, se utilizará una torunda con medio de transporte. El rendimiento de las muestras recogidas con torunda es menor.

Técnica para obtener la muestra para PCR

- Limpiar la superficie.
- Frotar la úlcera con la torunda que corresponda.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano y de hongos es suficiente una muestra.
- Para realizar PCR genital múltiple se precisa otra muestra independiente.
- Para la detección específica de virus mediante PCR se enviará otra torunda independiente.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología de forma urgente.
- Las muestras para cultivo bacteriano se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24-72 horas).
- Las muestras para PCR se mantendrán refrigeradas a 4°C (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano y de hongos que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- El cultivo bacteriano está indicado si existe sospecha de sobreinfección bacteriana (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, enterobacterias, etc), o por *Candida* spp.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará junto a la duración del mismo.
- Si existe sospecha de sífilis, se recomienda solicitar serología. La realización de un examen en campo oscuro para detectar *Treponema pallidum* tiene baja sensibilidad.

11.7. Endometrio

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de micobacterias.
- PCR genital múltiple.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en el endometrio.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	Enterobacterias <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus viridans</i> <i>Gardnerella vaginalis</i> Anaerobios <i>Chlamydia trachomatis</i> ¹ <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Actinomyces</i> spp. <i>Haemophilus</i> spp. <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Micobacterias		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

¹Se detecta mediante PCR

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano).
- Catéter de doble luz.
- Bote estéril de cierre hermético.
- Jeringa y aguja estéril.
- Vial para anaerobios tipo Portagerm[®].

Técnica para obtener la muestra

A. Método no invasivo

- Las muestras recogidas con torunda a través del cérvix se contaminan sistemáticamente.
- No se recomienda su uso.

B. Método invasivo

- El método que ofrece mejor rendimiento es la aspiración uterina a través de un catéter de doble luz.
- Previamente se debe realizar previa dilatación y descontaminación del cérvix con Povidona yodada.
- Inocular el aspirado en un bote estéril con tapón de rosca o en un vial específico de anaerobios tipo Portagerm[®].

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra si se obtiene por aspiración.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología de forma urgente.
- Las muestras para cultivo bacteriano se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24-72 horas).
- Las muestras para PCR se mantendrán refrigeradas a 4°C (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- Las muestras obtenidas mediante torundas no son recomendables para cultivo bacteriano.

Comentarios

- Es recomendable extraer hemocultivos. Se obtienen resultados positivos en un 30% de los casos.
- El aislamiento de *Candida* spp., *Lactobacillus* spp., etc carece de valor y suele indicar contaminación por recogida inadecuada de la muestra.
- Si la muestra se obtiene mediante torunda, los resultados deben evaluarse con cautela.

12. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO

12.1. Exudado rectal/anal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos (perianal).
- PCR específica de virus (solo si existen lesiones compatibles).
- PCR genital múltiple (ver apartado úlcera genital).
- Estudio de portadores de bacterias multirresistentes (ver apartado correspondiente).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado rectal/anal

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado exudado rectal/anal (tracto genital femenino).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos).
- Medio de transporte para virus (PCR específica de virus).
- Torunda de dacron (PCR genital múltiple).

Técnica para obtener la muestra

- **Exudados rectales:** introducir la torunda suavemente a través del esfínter anal y rotar contra las criptas rectales.
- **Exudados anales:** introducir la torunda en el ano y rotas varias veces.
- **Exudados perianales:** rotar la torunda sobre los márgenes del ano sin introducirla.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una muestra para cultivo bacteriano y de hongos.
- Para PCR genital múltiple se precisa de otra muestra independiente.
- Si existe sospecha de infección por virus se enviará una torunda independiente.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras para cultivo bacteriano y de hongos se mantendrán a temperatura ambiente (máximo 24 horas).
- Las muestras para PCR múltiple o de virus se refrigerarán a 4°C (máximo 72 horas).
- Todas las muestras se deben enviar al laboratorio lo antes posible.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano y de hongos recogidas mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará junto a la duración del mismo.
- Si existe sospecha de infección por *Neisseria gonorrhoeae* la muestra debe enviarse rápidamente y sembrarse de forma muy urgente. La viabilidad de este microorganismo es muy limitada y no puede garantizarse transcurridas 6-8 horas.
- El virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico se asocia a cáncer anal.

- El virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico produce verrugas genitales (condiloma acuminado). La localización anal es infrecuente.

12.2. Exudado uretral masculino

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco (*Trichomonas vaginalis*).
- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR genital múltiple
- PCR viral específica.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado uretral

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado exudado uretral (tracto genital femenino).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda fina con varilla de alambre no excesivamente flexible con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos).
- Torunda de dacron (PCR genital)
- Medio de transporte para virus (PCR viral específica)
- Gasas estériles.

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la zona periuretral con una gasa estéril.
- Introducir la torunda unos 2 cm en la uretra.
- Girar la torunda en sentido antihorario.

Número de muestras y momento de la extracción

- La muestra debe recogerse antes de la primera micción de la mañana. Si no es posible, se deberá esperar al menos dos horas tras la última micción para recogerla.
- Se recomienda una torunda para cultivo bacteriano y de hongos.
- Para realizar PCR genital múltiple se precisa otra muestra independiente.
- Para la detección específica de virus mediante PCR se enviará una torunda independiente.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras para cultivo bacteriano y de hongos se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24-72 horas).
- Las muestras para PCR se conservarán refrigeradas a 4°C (máximo 48-72 horas).
- Todas las muestras se deben enviar al laboratorio lo antes posible.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano y de hongos que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración.
- La viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* es limitada y no puede garantizarse transcurridas 6-8 horas.
- Los bacilos gramnegativos (enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*) producen uretritis en sondados, inmunodeprimidos, diabéticos, homosexuales y enfermos con patologías urológicas.
- El diagnóstico de las uretritis candidiásicas es difícil de realizar porque *Candida* spp. puede aislarse en la uretra de personas sanas.
- Un chancro luético en la uretra puede simular una uretritis.
- La infección uretral por el virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico se asocia a verrugas en la uretra distal (condiloma acuminado).
- La uretra es el principal reservorio del virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico en el varón. La infección es asintomática y con frecuencia desaparece espontáneamente.
- Si existe sospecha de infección por *Trichomonas vaginalis* puede ser de utilidad recoger una muestra de orina para realizar examen en fresco.

10.3. Úlcera genital

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano y de hongos
- PCR genital múltiple.
- PCR viral específica.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una úlcera genital

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado úlcera genital (tracto genital femenino).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Guantes estériles y gasas estériles.
- Suero salino estéril.
- Pipeta Pasteur.
- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Jeringa con aguja estéril.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Aimes (cultivo bacterino y de hongos).
- Torunda de dacron (PCR genital múltiple).
- Medio de transporte para virus (PCR viral específica).

Técnica para obtener la muestra para cultivo bacteriano o de hongos

- Se limpiará la superficie de la lesión con gasas humedecidas con suero salino.
- Evitar el uso de jabones.
- Con una gasa seca se frota suavemente la lesión hasta que se obtenga el fluido.
- Aspirar el fluido con una jeringa y aguja estéril. Introducir el contenido en contenedor estéril.
- Si no es posible, se utilizará una torunda con medio de transporte. El rendimiento de las muestras recogidas con torunda es menor.

Técnica para obtener la muestra para PCR

- Limpiar la superficie.
- Frotar la úlcera con la torunda que corresponda.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano y de hongos es suficiente una muestra.
- Para PCR genital múltiple se precisa otra muestra independiente.
- Para la detección específica de virus mediante PCR se enviará otra torunda independiente.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología de forma urgente.
- Las muestras para cultivo bacteriano se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24-72 horas).
- Las muestras para PCR se conservarán refrigeradas a 4°C (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano o de hongos que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- El cultivo bacteriano está indicado si existe sospecha de sobreinfección bacteriana (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, enterobacterias, etc), o por *Candida* spp.

- Si existe sospecha de sífilis se recomienda solicitar serología. La realización de examen en campo oscuro para detectar *Treponema pallidum* tiene baja sensibilidad y debe hacerse inmediatamente después de recoger la muestra. Técnica en desuso.

10.4. Semen

Muestra

- El semen es una muestra de bajo rendimiento microbiológico. Es aconsejable limitar su utilización al diagnóstico de prostatitis.
- Debe realizarse **siempre** un cultivo de orina de forma conjunta. Ver apartado comentarios.
- Consultar apartado orina en pacientes con prostatitis.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR genital múltiple.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una muestra de semen.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i>
Hongos		<i>Candida</i> spp.
Parásitos		<i>Trichomonas vaginalis</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles.
- Contenedor estéril de boca ancha y cierre hermético.

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la zona periuretral con una gasa estéril.
- Recoger la muestra en un contenedor estéril.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano y PCR genital múltiple es suficiente una muestra.
- La muestra se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología de forma urgente, especialmente si se sospecha infección por *Neisseria gonorrhoeae*.
- Las muestras para examen en fresco, cultivo bacteriano y de hongos se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24 horas).
- Las muestras para PCR se mantendrán refrigeradas (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano y de hongos que se obtengan en condiciones no estériles.
- Se debe evitar el uso de torundas.

Comentarios

- Las muestras de semen son muy poco recomendables para el diagnóstico de prostatitis debido a que con frecuencia están contaminadas con flora uretral. El aislamiento de un microorganismo no significa necesariamente que sea la causa de la prostatitis.
- Las muestras de semen deben acompañarse siempre de una muestra de orina representativa de la uretra (primera orina de la micción), y de la vejiga (orina de la micción media). Sólo es valorable el hallazgo de gérmenes en el cultivo de semen que no se aislen en la orina uretral y vesical.
- Las prostatitis crónicas pueden diagnosticarse mediante la técnica simplificada de Níkel. Se basa en el cultivo cuantitativo de orina pre y postmasaje prostático. La presencia de un microorganismo con un recuento de UFC/mL. ≥ 10 veces en la muestra postmasaje respecto a la muestra premasaje tiene una sensibilidad y especificidad de prostatitis crónica del 90%.

- Si existe sospecha de infección por *Neisseria gonorrhoeae* la muestra de mayor rendimiento es el exudado uretral. El rendimiento del cultivo de semen es muy bajo. La muestra debe enviarse rápidamente y sembrarse de forma muy urgente. La viabilidad de este microorganismo es muy limitada y no puede garantizarse transcurridas 6-8 horas. Existe la posibilidad de solicitar PCR.

13. LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

13.1. Líquido articular

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias (en casos concretos).
- PCR múltiple (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un líquido articular.

Artritis	Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Menor de 5 años	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp. <i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Enterobacterias <i>Kingella kingae</i>
5-60 años (Sin inmunosupresión)	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Brucella</i> spp. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
	Micobacterias		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Mayor de 60 años (Prótesis, herida penetrante, inmunosupresión, UDVP, con comorbilidad)	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> Bacilos gramnegativos <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Nocardia</i> spp.
	Hongos		<i>Candida</i> spp.
	Micobacterias		<i>Mycobacterium</i> spp.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- Desinfectar la superficie cutánea con una gasa estéril impregnada en alcohol, limpiando la zona de forma concéntrica comenzando por el centro y abarcando una zona de unos 10 cm.
- Repetir la operación con povidona yodada. En pacientes con hipersensibilidad al yodo se utilizará alcohol dos veces consecutivas.
- Dejar secar al menos un minuto.
- Realizar una punción aspiración del líquido sinovial con la jeringa y aguja.
- Inocular el contenido en un contenedor estéril. No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda recoger un volumen mínimo de 1–5 mL.
- Para estudio de aerobios y anaerobios es necesario 1-5 mL.
- Para estudio de hongos es necesario 10 mL.
- Para estudio de micobacterias es necesario 10 mL.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para todos los estudios microbiológicos es suficiente una sola muestra siempre y cuando el volumen sea el adecuado.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra se enviará al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- La muestra se conservará refrigerada a 2-8 °C (máximo 24 horas).

Muestras inadecuadas

- Muestras mal identificadas.
- Muestras no recogidas en contenedores estériles.
- Muestras no recogidas de manera aséptica.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración.
- Indicar la localización anatómica de la muestra.
- Si existe sospecha de infección por *Neisseria gonorrhoeae*, debe comunicarse al laboratorio de microbiología de forma inmediata.
- El rendimiento de la tinción de Gram es bajo.
- El rendimiento del cultivo de micobacterias es bajo. La rentabilidad aumenta si se cultiva la membrana sinovial (biopsia). La muestra debe enviarse en un contenedor estéril con suero fisiológico estéril. Puede conservarse refrigerada a 4°C durante un máximo de 72 horas.
- La PCR múltiple de líquido articular solo está disponible en algunos centros. Está indicada en casos urgentes de artritis séptica. Consultar con el laboratorio de microbiología.

13.2. Líquido cefalorraquídeo (LCR)

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos (en casos concretos).
- Cultivo de micobacterias (en casos concretos).
- PCR múltiple (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un líquido cefalorraquídeo.

Recién nacidos	Niños/adolescentes	Adultos > 30 años	Adultos >50 años/ inmunodeprimidos
<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Enterovirus Virus herpes simple	<i>S. pneumoniae</i> Enterovirus Virus herpes simple Virus herpes zóster	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Citomegalovirus <i>Cryptococcus neoformans</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Tubos secos y estériles con tapón de rosca identificados con los datos del paciente.
- Anestesia local sin adrenalina.
- Gradilla o batea.
- Jeringas de 5 mL y 10 mL.
- Agujas intramusculares.

- Apósito estéril.
- Trócares de punción lumbar de varios tamaños.
- Contenedor para material punzante.
- Manómetro de medición con tres llaves.

Técnica para obtener la muestra

- Siempre que sea posible, el LCR debe obtenerse antes de la instauración de tratamiento antibiótico, si bien los procedimientos diagnósticos no deben retrasar jamás su comienzo.
- La toma debe realizarse con las máximas condiciones de asepsia para evitar la contaminación de la muestra, y ésta no debe ponerse nunca en contacto con antisépticos o desinfectantes:
 - Lavarse las manos.
 - Ponerse mascarilla y guantes.
 - Desinfectar la zona de punción con alcohol al 70 % con movimientos circulares, de dentro hacia fuera unos 10 cm de diámetro y esperar 2 minutos. Repetir la operación con clorhexidina.
 - Realizar la punción entre los espacios intervertebrales L3-L4, LA-L5 o L5-S1, siguiendo las normas de la más estricta asepsia. Al llegar al espacio subaracnoideo retirar el estilete y dejar salir libremente el líquido cefalorraquídeo que se recogerá en tres tubos estériles con tapón de rosca.
 - Medir la presión conectando el manómetro y sujetar los tubos para recoger el LCR.
 - Después de recoger las muestras y retirar el trocar, se aplica presión directa sobre la zona, se desinfecta y se coloca un apósito estéril.
 - **En las derivaciones externas**, el LCR se obtendrá a través del catéter ventricular o lumbar. Para asegurar la esterilidad, se aplicará un antiséptico en la llave antes de realizar la obtención de la muestra y después de la misma.

- **En las derivaciones internas**, el LCR se obtendrá por punción directa del reservorio o de la válvula, o a través del catéter distal externalizado. La punción del reservorio debe realizarse con todas las medidas de asepsia para evitar la infección iatrogénica o la contaminación de la muestra.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- El LCR se debe recoger en tres tubos secos y estériles. Generalmente, el primero se utilizará para el estudio bioquímico, el segundo para el estudio microbiológico y el tercero para investigación de células.
- El tubo más turbio se enviará al laboratorio de microbiología.
- Para el estudio de bacterias o virus habituales se necesita 1 mL en cada caso.
- Si deben investigarse hongos o micobacterias es necesario disponer de 2 mL adicionales para cada uno de estos estudios.

Transporte y conservación de las muestras

- El transporte se realizará de forma inmediata tras la obtención de la muestra.
- La entrega se hará en mano. No se debe emplear el tubo neumático.
- Las muestras deben procesarse de forma inmediata. Si no es posible, se conservarán en la estufa a 37°C o temperatura ambiente hasta su procesamiento en un plazo máximo de 24 horas.
- Las muestras de LCR para investigación de virus se conservarán refrigeradas a 2-8°C. Si el envío se retrasa más de 24 horas se deben congelar a -70 °C.

Muestras inadecuadas

- Muestras sin identificar.
- Muestras derramadas.
- Muestras recogidas en contenedores no estériles o con anticoagulante.

Observaciones

- El LCR de un paciente con sospecha de meningitis es la muestra clínica de mayor prioridad en un laboratorio de microbiología clínica y debe ser procesado de manera inmediata.
- Se recomienda extraer de forma paralela hemocultivos, pudiendo ser estudiadas las posibles lesiones metastásicas cutáneas (ver apartado petequias).
- Para el diagnóstico de las meningitis y encefalitis víricas es aconsejable realizar la toma de una muestra de sangre para la obtención de suero en el mismo momento de la toma del LCR con el fin de poder realizar estudios serológicos.
- Las muestras de LCR obtenidas en punciones traumáticas o las procedentes de pacientes con hemorragia subaracnoidea pueden coagularse debido al alto contenido hemático, dificultando el recuento celular. **En ningún caso deben emplearse tubos heparinizados** para recoger las muestras de LCR para los análisis microbiológicos.
- 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
- En algunos centros existe la opción de realizar una PCR múltiple de forma urgente. Consultar con el laboratorio de microbiología.

13.3. Líquido ascítico

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias (en casos concretos).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un líquido ascítico

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado líquido peritoneal (peritonitis primaria).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Paños estériles.
- Gasas estériles.
- Guantes estériles.
- Jeringuillas y agujas estériles. No emplear jeringuillas heparinizadas.
- Alcohol etílico 70 %.
- Clorhexidina.
- Recipientes estériles con tapón de rosca de boca ancha.
- Sistema de transporte de líquidos para estudio de anaerobios tipo Portagerm[®].
- Frascos de hemocultivos (opcional).
- Hisopos (solo en el caso de no poder aspirar).

Técnica para obtener la muestra

- 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 clorhexidina.
- La toma se hace por punción percutánea (paracentesis) de forma aséptica para evitar la contaminación por la flora cutánea o ambiental.
- Una vez realizada la toma percutánea se retira la clorhexidina de la piel con un apósito impregnado en etanol al 70%.
- Con menos frecuencia se pueden realizar tomas de estas localizaciones en el transcurso de intervenciones quirúrgicas. En esta circunstancia debe desaconsejarse el uso de hisopos, siendo preferible también la aspiración. Las torundas solo se utilizarán si el contenido no puede ser aspirado.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra.
- Para el estudio bacteriano rutinario es suficiente de 1 a 10 mL.
- Cuando se requiera la investigación de *Mycobacterium tuberculosis* y hongos se enviará un volumen superior a 10 mL.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras deben ser enviadas inmediatamente al laboratorio y hasta su procesamiento se mantendrán a temperatura ambiente.
- Cuando las muestras se destinen a la investigación de micobacterias y hongos, deberán mantenerse en nevera (4°C).

Muestras inadecuadas

- Muestra sin identificar.
- Muestra derramada.
- Muestra en contenedor no estéril o con anticoagulante.

Comentarios

- Cuando se utilice 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
- Para evitar la coagulación de algunos de estos líquidos se usará heparina sin conservantes.
- Los recipientes idóneos son tubos estériles de tapón de rosca o de presión negativa sin conservantes. Se llenarán hasta el tapón; de esta forma pueden ser útiles para el estudio de anaerobios, especialmente si la muestra es purulenta.
- Si existe sospecha de anaerobios también se pueden emplear viales específicos tipo Portagerm®.
- La inoculación en botellas de hemocultivos está particularmente indicada si el envío se va a retrasar o en líquidos que puedan coagularse. Se recomienda 10 mL por frasco.

13.4. Líquido de diálisis peritoneal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.

Microorganismos con significado que pueden aislarse en un líquido de diálisis peritoneal

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado líquido peritoneal.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Recipientes estériles de boca ancha.
- Frascos de hemocultivos (opcional)
- Cubeta con hipoclorito sódico al 2%.
- Cubeta con agua tratada.
- Cubeta vacía para drenaje del dializado.
- Guantes de látex.

Técnica para obtener la muestra

- La muestra para el diagnóstico es el líquido efluente.
- Se obtiene por punción con aguja y jeringa de la zona diseñada para la administración de fármacos de la bolsa de diálisis más turbia, previa desinfección con povidona yodada.
- La muestra se inoculará en un bote estéril de cierre hermético y/o en dos frascos de hemocultivos (aerobio y anaerobio).

- La inoculación en los frascos de hemocultivo se realiza con jeringa y aguja previa desinfección del tapón de goma con clorhexidina al 2%.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra.
- Para el estudio bacteriano rutinario es suficiente de 1 a 10 mL.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras deben enviarse inmediatamente al laboratorio de microbiología y se mantendrán a temperatura ambiente hasta su procesamiento.

Muestras inadecuadas

- Muestra sin identificar.
- Muestra derramada.
- Muestra en contenedor no estéril.

Comentarios

- Existe la opción de inocular la muestra en botellas de hemocultivos, especialmente si el envío se va a retrasar.
- Si la muestra se inocula en botellas de hemocultivos, se enviará una muestra adicional recogida en bote estéril para realizar tinción de Gram.

13.5. Líquido pericárdico

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano y de hongos.
- Cultivo de micobacterias.
- PCR de virus.
- PCR específica (*Toxoplasma gondii*).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un líquido pericárdico.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Virus	Enterovirus (virus Coxackie, Echovirus) Virus de la gripe Adenovirus Virus de la parotiditis Virus herpes simple Parvovirus B19	Virus hepatitis B SARS-CoV-2 VIH
Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> Enterobacterias <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> Anaerobios (fístulas mediastínicas)
Hongos		<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. (tras cirugía).
Micobacterias		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Parásitos		<i>Toxoplasma gondii</i>

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Paños estériles.
- Gasas estériles.
- Guantes estériles.
- Jeringuillas y agujas estériles. No emplear jeringuillas heparinizadas.
- Alcohol etílico 70 %.
- Clorhexidina.
- Recipientes estériles con tapón de rosca de boca ancha.
- Sistema de transporte de líquidos para estudio de anaerobios tipo Portagerm®.
- Frascos de hemocultivos (opcional).

Técnica para obtener la muestra

- 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 clorhexidina.
- La toma se hace por punción percutánea con control electrocardiográfico.
- Una vez realizada la toma percutánea se retira la clorhexidina de la piel con un apósito impregnado en etanol al 70%.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra.
- Para el estudio bacteriano rutinario o de virus es suficiente de 1 a 10 mL.
- Cuando se requiera la investigación de *Mycobacterium* spp. u hongos se enviará un volumen superior a 10 mL.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras deben ser enviadas inmediatamente al laboratorio.
- Las muestras para cultivo bacteriano se mantendrán a temperatura ambiente.
- Cuando las muestras se destinen a la investigación de micobacterias, virus y hongos, deberán mantenerse en nevera (4°C)..

Muestras inadecuadas

- Muestra sin identificar.
- Muestra derramada.
- Muestra en contenedor no estéril o con anticoagulante.

Comentarios

- Si existe sospecha de anaerobios se pueden emplear viales específicos tipo Portagerm®.

13.6. Líquido pleural

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo aerobio y anaerobios
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un líquido pleural

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado esputo.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Paños, gasas y guantes estériles
- Jeringuillas y agujas estériles. No se deben utilizar jeringuillas heparinizadas.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada.
- Contenedor estéril con cierre hermético (preferible para estudio de micobacterias).
- Medio de transporte para anaerobios tipo Portagerm[®] (preferible para estudio de bacterias).

Técnica para obtener 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%.
- Introducir en contenedor estéril o vial específico para anaerobios tipo Portagerm[®].

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Para estudio bacteriano rutinario es suficiente de 1 a 10 mL en un contenedor estéril de cierre hermético o con medio de transporte para anaerobios.
- Cuando se requiera la investigación de *Mycobacterium tuberculosis* y hongos se enviará un volumen superior a 10 mL en un contenedor estéril de boca ancha.

Transporte y conservación de las muestras

- Muestras para cultivo bacteriano recogidas en un contenedor con medio de transporte para anaerobios: temperatura ambiente (máximo 24 horas).
- Muestras para cultivo bacteriano recogidas en bote sin medio de transporte: el envío debe ser inmediato. La muestra se guardará a temperatura ambiente (máximo 15 minutos).
- Muestras para cultivo de hongos o micobacterias: la muestra debe conservarse refrigerada (máximo 24 horas).

Muestras inadecuadas

- Muestra sin identificar o derramada.
- Muestra en contenedor no estéril o con anticoagulante.

Comentarios

- Cuando se utilice 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.

13.7. Líquido amniótico

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- PCR específica de virus.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un líquido amniótico.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> Enterobacterias <i>Gardnerella vaginalis</i> Anaerobios	<i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Mycoplasma hominis</i>
Virus	Parvovirus B19	Virus herpes simple Citomegalovirus

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Clorhexidina.
- Aguja y jeringa.
- Contenedor estéril.
- Vial específico para anaerobios tipo Portagerm®.
- Se requiere la monitorización del feto.

Técnica para obtener la muestra

- La amniocentesis es un proceso complejo que consiste en la extracción de una pequeña cantidad del líquido del saco que rodea al feto en el útero. Es un proceso complejo, que debe realizarse siempre en condiciones de asepsia y solo cuando sea estrictamente necesario.
- La muestra se recogerá antes de instaurar el tratamiento antibiótico, siempre que las condiciones clínicas del paciente lo permitan.
- No se debe emplear formol, ni ningún conservante o anticoagulante.
- La extracción será mediante amniocentesis transabdominal, aspiración con aguja en el momento de la cesárea o a través de un catéter transcervical intrauterino.
- Recoger el líquido aspirado en el bote correspondiente.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Se pueden extraer al menos tres muestras: una para microbiología, otra para bioquímica y la tercera para anatomía patológica.
- Para microbiología se recomienda un mínimo de 1 mL, pero lo ideal sería 10 mL.

Transporte y conservación de las muestras

- El transporte al laboratorio debe ser inmediato.
- La muestra debe conservarse a temperatura ambiente (bacterias) o refrigerada (virus).

Muestras inadecuadas

- Muestra mal identificada.
- Muestra derramada.
- Muestra en medio de transporte inadecuado.

Comentarios

- Si existe sospecha de anaerobios se pueden emplear viales específicos tipo Portagerm®.
- En casos sospechosos de corioamnionitis se recomienda recoger hemocultivos a la madre (10% de los casos presentan bacteriemia).

14. CATÉTERES Y DRENAJES

14.1. Punta de catéter

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una punta de catéter.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	Estafilococos coagulasa negativos (<i>Staphylococcus epidermidis</i>) <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Corynebacterium</i> spp.	Enterobacterias <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Cutibacterium</i> spp. <i>Micrococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.
Hongos		<i>Candida</i> spp.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Guantes de goma estériles.
- Gasas estériles.
- Pinzas y tijeras estériles.
- Recipiente estéril con tapa de rosca.
- Alcohol etílico a isopropílico al 70%.
- Alcohol iodado al 1-2% o un iodóforo al 10%.

Técnica para obtener la muestra

- Desinfectar con etanol 70% una zona de la piel de unos 10 cm de diámetro correspondiente a la zona de entrada del catéter. Hacerlo en círculos concéntricos, comenzando por el centro.
- Repetir la misma operación pero con solución alcohólica de clorhexidina al 2 ó 0,5%, dejando que se seque 1 minuto.
- Retirar el catéter con la máxima asepsia.
- Ayudándose de pinzas y tijeras estériles, cortar los 2-4 cm distales del catéter, que corresponden a la porción intravascular.
- Introducir el segmento del catéter en el recipiente estéril de tapa a rosca.
- Identificar bien la muestra.

Cantidad necesaria y momento de la extracción

- 2-4 cm de la porción más distal del catéter.
- La muestra se obtendrá cuando existan signos locales de infección .

Transporte y conservación de las muestras

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

Comentarios

- Una vez realizada la toma se debe identificar la muestra con los datos del paciente.
- El cultivo de catéter intravascular no tiene valor para el diagnóstico de bacteriemia relacionada con catéter si no viene acompañado de un hemocultivo obtenido por venopunción.
- Las muestras de un catéter aislado (sin hemocultivo) tienen escasa utilidad.

14.2. Orificio de salida de catéter o piel pericatóter

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado que pueden aislarse en un orificio de salida de catéter

- Consultar los microorganismos descritos en el apartado punta de catéter.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda con medio de transporte de Stuart-Aimies.

Técnica para obtener la muestra

- Frotar la piel que rodea los 2-3 cm del punto de inserción del catéter.
- Posteriormente introducir la torunda en su medio de transporte.

Momento de la toma de muestra

- Cuando se sospeche bacteriemia asociada al catéter y/o presencia de signos locales de infección.

Transporte y conservación de las muestras

- Enviar la muestra al laboratorio en el menor tiempo posible.
- En caso de demora, mantenerla a temperatura ambiente hasta su envío.

Comentarios

- Una vez realizada la toma se debe identificar la muestra con los datos del paciente.

14. 3. Drenaje

Muestra

- El material de drenaje y puntas de catéter vesical, biliar y redón son muestras de mala calidad para cultivo microbiológico porque con frecuencia están colonizadas por bacterias no relacionadas con la infección.
- No se recomienda su cultivo.
- Si se realiza cultivo, los resultados deben evaluarse con precaución.

15. BIOPSIAS

15.1. Biopsia

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.
- PCR específica (virus, micobacterias).

Microorganismos con significado que pueden aislarse en una biopsia

- Son muy variables y dependen del cuadro clínico.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- El material quirúrgico estéril que precise la técnica empleada para la obtención de las biopsias de distintas localizaciones.
- Jeringas y agujas estériles.
- Suero salino estéril.
- Recipientes estériles con tapa de rosca.
- Sistemas de transporte específicos para anaerobios tipo Portagerm®.
- Vial de transporte para virus.

Técnica para obtener 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.

Volumen necesario y número de muestras

- Muestras sólidas: Se recomienda obtener la mayor cantidad posible.
- Muestras líquidas: 5-10 mL.

Transporte y conservación de las muestras

- Los fragmentos se introducirán en un recipiente estéril con tapa de rosca y cierre hermético, añadiendo unas gotas de suero salino estéril para prevenir la desecación.
- Las muestras líquidas en las que se sospeche infección por bacterias anaerobias se inocularán en vial específico tipo Portagerm®.
- El envío de estas muestras debe ser **inmediato**.
- Si el transporte se demora, la muestra se conservará a temperatura ambiente (bacterias) o refrigerada (hongos, virus, micobacterias).

Comentarios

- Una vez realizada la toma se debe identificar la muestra con los datos del paciente.
- No introducir las muestras en **formol** ni otras sustancias que puedan inhibir el crecimiento de microorganismos, ni utilizar recipientes de dudosa esterilidad.

- Especificar claramente en la solicitud el tipo de estudio solicitado.
- 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 los laboratorios de microbiología para evitar errores y orientar las investigaciones posteriores en función de la sospecha clínica.

15.2. Necropsia

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio y anaerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.
- PCR específica (virus, micobacterias).

Microorganismos que pueden aislarse en la leche materna

- Son muy variables y dependen del cuadro clínico.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- 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.

Técnica para obtener la muestra

- Las muestras se recogerán preferentemente antes de que el cadáver se manipule.
- La piel o las superficies serosas de los órganos deben desinfectarse antes de realizar punciones o extraer bloques de tejidos. Para esto pueden seguirse los procedimientos generales de desinfección, utilizando consecutivamente alcohol etílico o isopropílico al 70% y povidona yodada al 10%, o bien, cauterizar mediante una espátula al rojo.

- **Muestras sólidas**

- Se enviará una cuña de unos de 5-10 cm³, que incluya una superficie serosa o capsular intacta.

- **Muestras líquidas**

- Se obtendrán por aspiración con jeringa y aguja siguiendo técnicas estrictamente asépticas.

- **Muestras de sangre**

- Se obtendrán por punción-aspiración de cavidades cardíacas derechas.
- Se inoculará en frascos de hemocultivos siguiendo las instrucciones correspondientes.

Volumen necesario y número de muestras

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

Transporte y conservación de las muestras

- 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 se deberán conservar refrigeradas durante menos de 24 horas.
- Frascos de hemocultivo: ver instrucciones en el apartado correspondiente.

Comentarios

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

16. MÉDULA ÓSEA

16.1. Médula ósea

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- Cultivo de micobacterias.
- Estudio de parásitos: tinción de Giemsa y PCR.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en la médula ósea.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias		<i>Brucella</i> spp.
Hongos	<i>Candida</i> spp.	<i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Cryptococcus neoformans</i>
Micobacterias	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
Parásitos	<i>Leishmania</i> spp.	

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Guantes estériles.
- Gasas estériles.
- Material para anestesia local.
- Material para punción ósea.
- Povidona iodada.

- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Tubos con anticoagulante.
- Botellas de hemocultivo (de bacterias aerobias/anaerobias, hongos y micobacterias).

Técnica para obtener la muestra

- La punción se realiza fundamentalmente en la cresta ilíaca (alternativas válidas: esternón, apófisis vertebrales, y en niños en la meseta tibial).
- Descontaminar la piel y posteriormente previa anestesia local se realiza la aspiración estéril de la médula ósea.

Volumen necesario

- El volumen obtenido no debe ser inferior a 1 mL.

Inoculación en los medios de cultivo apropiados

- Tubo con anticoagulante EDTA: para estudio microscópico o PCR (leishmaniasis).
- Botellas de hemocultivos (aerobios/anaerobios): para cultivo bacteriano.
- Botellas de hemocultivos (micobacterias): sospecha infección diseminada por micobacterias.
- Botellas de hongos: sospecha histoplasmosis, criptococosis, etc.

Comentarios

- Una vez realizada la toma se debe identificar la muestra con los datos del paciente.
- La muestra se debe enviar al laboratorio de microbiología lo antes posible.

17. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE PORTADORES

17.1. Frotis nasal, rectal, axilar y faríngeo

Objetivo

- Detectar la presencia de bacterias multirresistentes.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo en medios selectivos.

Microorganismos con significado clínico que se investigan para estudio de portadores.

Microorganismos	
Bacterias	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistentes <i>Staphylococcus aureus</i> meticilín resistente <i>Acinetobacter baumannii</i> mutirresistente Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (Blee) Enterobacterias productoras de carbapenemasas <i>Enterococcus faecium</i> resistente a vancomicina

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda de dacron con medio de transporte de Stuart-Amies

Técnica para obtener la muestra:

- **Frotis nasal:** introducir el hisopo al menos 1cm en la fosa nasal, girar suavemente contra la mucosa de la superficie nasal, mantenerlo 10-15 segundos y extraer.

- **Frotis rectal:** introducir la torunda suavemente a través del esfínter anal y rotar contra las criptas rectales.
- **Frotis faríngeo:** bajo visión directa y con la ayuda de un depresor lingual, se tocará con una torunda varias zonas de la faringe.
- **Frotis axilar:** pasar hisopo por zona axilar.

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

- Una muestra de cada localización.
- Se recogerán semanalmente a todos los pacientes tanto de la UCI como de otros servicios.

Transporte y conservación de las muestras

- Enviar las muestras lo más rápidamente posible al laboratorio de microbiología.
- Si se demora el transporte, conservar las muestras a temperatura ambiente hasta un máximo de 24 horas.

Muestras inadecuadas

- Muestras sin identificar la localización de las muestras.

Observaciones

- Estas muestras se recogen para conocer el estado de portador.
- El cultivo de estas muestras no sirve para el diagnóstico de infección.

18. SANGRE PARA SEROLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

18.1. Suero

Muestra

- El suero se obtiene recogiendo sangre venosa en un tubo sin anticoagulante dejándola reposar para que se forme el coágulo.
- Posteriormente se centrifuga a una velocidad y tiempo definidos.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Detección de anticuerpos.
- Detección de antígenos.

Aplicaciones de la determinación de anticuerpos.

Diagnóstico de infección	Comentarios
Estudio del estado inmunitario	Control de embarazo, Control posvacunación hepatitis B, Estudios epidemiológicos, Diagnóstico (seroconversión), etc.

Tipos de anticuerpos estudiados habitualmente.

	Comentarios
IgM	<ul style="list-style-type: none">● Se relaciona habitualmente con infección aguda, pero en algunas infecciones se correlaciona no sólo con la fase temprana de la enfermedad, sino también con la actividad de la misma en estadios crónicos.● Se precisa como mínimo de 7 a 10 días desde la exposición para poder tener una concentración mínima detectable.● Pueden persistir detectables durante periodos prolongados, por lo que su utilidad debe ser evaluada para cada agente infeccioso y en el contexto de las manifestaciones clínicas.
IgG	<ul style="list-style-type: none">● En general, alcanzan niveles máximos a las 4-6 semanas después de la exposición, persistiendo de por vida.● Para diagnóstico se requiere el procesamiento de dos sueros en paralelo, uno tomado en la fase aguda de la enfermedad y otro 3-4 semanas más tarde, durante la convalecencia. Un aumento de 4 veces en el título se considera evidencia de infección reciente.
Anticuerpos totales	<ul style="list-style-type: none">● IgM + IgG

Infecciones diagnosticadas habitualmente mediante detección de anticuerpos.

Infección	Procedimientos serológicos disponibles
Hepatitis A	IgM VHA
Hepatitis B	HBsAg y anti-HBc
Hepatitis C	Anti-VHC
Brucelosis	Rosa de Bengala, aglutinaciones, Coombs de Brucella, detección de anticuerpos por ELISA
Citomegalovirus (CMV)	Citomegalovirus IgM, IgG
Virus de Epstein-Barr (VEB)	Paul-Bunnell, IgM anti-VCA, IgG anti-VCA, IgG anti-EBNA
VIH	Anti-VIH
Sífilis (<i>Treponema pallidum</i>)	Pruebas no trepónemicas: RPR Pruebas trepónemicas: TPHA, EIA, FTA-Abs
Hidatidosis	Hemaglutinación
Sarampión	IgM (programa de erradicación de sarampión)
Enfermedad de Chagas	IgM + IgG (si es positiva, confirmar con segunda técnica).

Perfiles serológicos más habituales.

Infección	Perfil serológico
Hepatitis aguda	IgM anti-VHA HBsAg y anti-HBc IgM anti-VHC anti-VHD IgM (en UDP positivos para HbsAg)
Hepatitis crónica	HBsAg y anti-HBc total Anti-VHD total (en UDP positivos para HBsAg) anti-VHC
Control postvacunación de VHB	Anti-Hbs
Síndrome mononucleósico	Paul-Bunnell, serología VEB, Citomegalovirus IgM, Toxoplasmosis IgM
Control previo al embarazo Control primer trimestre de embarazo	Toxoplasma IgG, Rubeola IgG, RPR, HBsAg, Anticuerpos VIH-1-2

Aplicaciones para la detección de antígenos en suero.

Tipo	Características
Galactomanano ¹	<ul style="list-style-type: none">- El galactomanano es un componente de la pared de <i>Aspergillus</i> spp.- En enfermos con aspergilosis invasiva puede detectarse de forma precoz, incluso antes de la aparición de síntomas y signos radiológicos.- Las muestras deben guardarse refrigeradas a 4°C (máximo 5 días) o congelarse a -20°C o -70°C.
1-3 Beta-D-glucano	<ul style="list-style-type: none">- El 1-3 Beta-D-glucano es un componente de la pared celular fúngica.- Se utiliza para el diagnóstico de diferentes infecciones fúngicas invasivas.- Las muestras deben guardarse refrigeradas a 4°C (máximo 5 días) o congelarse a -20°C o -70°C.

¹También puede realizarse en lavado broncoalveolar.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Guantes y compresor.
- Algodón o gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Sistema de toma de sangre para tubos de presión negativa (aguja palomilla y adaptador o cono); en su defecto se recomienda jeringa y aguja estéril de punción intravenosa.
- Tubo sin anticoagulante con gel separador con cierre hermético de presión negativa.
- Existen comercializados tubos con tapones de distintos colores. Se deben utilizar los códigos de colores y los volúmenes específicos indicados en cada laboratorio de referencia.
- Etiquetas identificativas.

Técnica para obtener la muestra

- Utilizar guantes.
- Corroborar la identidad del paciente antes de la extracción.
- Identificar los tubos con la misma numeración que el volante de petición utilizando etiquetas con códigos de barras. Si se utilizan etiquetas preimpresas, las etiquetas sobrantes se remitirán al laboratorio junto con los volantes y los tubos extraídos.
- Colocar el compresor 4 cm por encima de la zona elegida para la punción.
- Localizar la vena y desinfectar la piel con alcohol.
- Dejar secar la piel para evitar la producción de hemólisis en la muestra de sangre.
- Colocar la aguja al portatubos.
- Puncionar la vena colocando el bisel hacia arriba.
- Conectar el tubo o tubos de vacío a la aguja. Los tubos se llenan hasta que se agote el vacío del que disponen.
- Si se van a extraer distintos tubos a un mismo paciente el orden de extracción deberá ser:
 1. Tubo sin aditivos.
 2. Tubo con gel separador.
 3. Tubo con citrato.
 4. Tubo con heparina.
 5. Tubo con EDTA.
 6. Tubo con oxalato-flúor.
- Nunca se pasará sangre de un tubo a otro.
- Una vez realizada la extracción retirar el compresor y la aguja y realizar la hemostasia con algodón seco.
- Desechar el material utilizado. Las agujas se desecharán en un contenedor rígido homologado de punzantes.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se deben seguir las indicaciones específicas de cada laboratorio de microbiología.

Número de muestras y momento de la extracción

- Preferiblemente en ayunas para evitar lipemia.
- Dependiendo de la etiología a diagnosticar y del tiempo de evolución, será suficiente una única muestra o deberá remitirse una segunda muestra 2-4 semanas después.
- Un único suero de la fase aguda para estudio de IgM específica puede ser útil en el diagnóstico de algunos casos (IgM hepatitis A).
- Un único suero de la fase de convaleciente puede utilizarse ocasionalmente para diagnosticar una infección reciente.

Transporte y conservación de las muestras

- Dejar los tubos a temperatura ambiente para favorecer la coagulación hasta su transporte.
- Transportar las muestras refrigeradas el mismo día de la extracción. En caso de demora en el envío, puede mantenerse refrigerada durante 2-3 días. Si se va a tardar más tiempo la sangre debe centrifugarse y congelarse a -20°C .

Muestras inadecuadas

- Las muestras sin identificar.
- En algunos casos la lipemia y/o la hemólisis interfiere en los resultados.

Comentarios

- Si existe sospecha de infecciones infrecuentes se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología.

18.2. Plasma

Muestra

- El plasma se obtiene recogiendo sangre venosa en un tubo con anticoagulante, o con anticoagulante y gel separador.
- Se debe mezclar inmediatamente, posteriormente se centrifuga a una velocidad y tiempo definidos.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- **Detección de anticuerpos:** la mayoría de las técnicas utilizadas permiten la detección de anticuerpos en suero o plasma indistintamente, utilizando EDTA como anticoagulante, pero en general se suele realizar en suero.
- **Estudio de cargas virales:** VIH, VHC, VHB, virus de Epstein Barr, etc.
- **PCR específicas:** CMV, virus BK, etc

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- El mismo que el descrito en muestra suero.
- La única diferencia es el tubo utilizado.
- Tubo con anticoagulante y gel separador con cierre hermético de presión negativa
- Cada laboratorio tiene establecido el tipo, color y tamaño de los tubos que deben remitirse para las distintas determinaciones solicitadas. Estas normas deben seguirse para facilitar la rápida distribución de las muestras en las diferentes Unidades Diagnósticas.

Técnica para obtener la muestra

- La misma que la descrita para la obtención de suero, prestando atención al orden de extracción de los diferentes tubos.
- Una vez realizada la extracción retirar el compresor y la aguja y realizar la hemostasia con algodón seco.
- Desechar el material utilizado. Las agujas a contenedor rígido homologado de punzantes.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se deben seguir las indicaciones específicas de cada laboratorio de referencia.

Número de muestras y momento de la extracción

- Preferiblemente en ayunas para evitar lipemia.

Transporte y conservación de las muestras

- Para realización de pruebas moleculares las muestras serán entregadas antes de 2 horas en el laboratorio de microbiología.

Muestras inadecuadas

- Las muestras sin identificar.
- En algunos casos la lipemia y/o la hemólisis interfiere en los resultados por lo que se solicitará nueva muestra.

Comentarios

- Si existe sospecha de infecciones infrecuentes se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología.

- Para el diagnóstico de la infección congénita por CMV en neonatos se precisa orina y no plasma.
- Para el diagnóstico de la infección por el virus BK en el trasplante renal se requiere plasma y orina.

18.3. Sangre total

Muestra

- Sangre completa.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Detección de ácidos nucleicos: *Toxoplasma gondii*, *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium* spp., etc
- Detección de antígenos: es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología.
- Visualización de parásitos (ver apartado correspondiente).
- Cuantificación (ver comentarios).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- El mismo que el descrito en muestra suero.
- La única diferencia es el tubo utilizado.
- Tubo con anticoagulante con cierre hermético de presión negativa

- Cada laboratorio tiene establecido el tipo, color y tamaño de los tubos que deben remitirse para las distintas determinaciones solicitadas. Estas normas deben seguirse para facilitar la rápida distribución de las muestras en las diferentes Unidades Diagnósticas.

Técnica para obtener la muestra

- La misma que la descrita para la obtención de suero, prestando atención al orden de extracción de los diferentes tubos.
- Nunca se pasará sangre de un tubo a otro.
- Después de la extracción, retirar la aguja y realizar la hemostasia con algodón seco.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se deben seguir las indicaciones específicas de cada laboratorio de microbiología.

Número de muestras y momento de la extracción

- Preferiblemente en ayunas para evitar lipemia.

Transporte y conservación de las muestras

- Para realización de pruebas moleculares las muestras serán entregadas antes de 2 horas en el laboratorio.

Muestras inadecuadas

- En algunos casos la lipemia y/o la hemólisis interfiere en los resultados por lo que se solicitará nueva muestra.

Comentarios

- Si existe sospecha de infecciones infrecuentes se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología.
- El Quantiferon es un ensayo que mide la liberación de interferón gamma por células T específicas de antígeno en respuesta a la estimulación in vitro por antígenos de *Mycobacterium tuberculosis*. Permite el diagnóstico de la enfermedad tuberculosa latente. Puede realizarse en pacientes de cualquier edad, incluso en embarazadas, niños, VIH o en personas inmunodeprimidas. Se utilizan tubos específicos. Contactar con el laboratorio de microbiología para conocer las normas de recogida de las muestras.

19. OTRAS MUESTRAS

19.1. Vesícula

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- PCR de virus.

Microorganismos que pueden aislarse en una vesícula.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>
Virus	Virus varicela zóster Virus herpes simple	

Material necesario para realizar la toma de muestra

- Jeringa y aguja estéril.
- Alcohol de 70°C.
- Povidona iodada.
- Contenedor estéril con cierre hermético.
- Medio de transporte de virus.
- Portaobjetos.

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la piel con alcohol 70°C y desinfectar con povidona iodada dejando secar 60 segundos.
- Punzar el sitio elegido e inocular la muestra en un contenedor estéril con tapa de rosca. Se debe evitar el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.
- Si no se obtiene material por este procedimiento, inyectar 0.5-1mL de solución fisiológica estéril y aspirar nuevamente.
- Para estudio de virus debe realizarse la toma de la lesión de la misma manera, transfiriendo la muestra en el medio de transporte de virus.
- Para el diagnóstico directo realizar una impronta tomada directamente de la lesión con un portaobjetos.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda obtener la mayor cantidad posible.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano es suficiente una muestra.
- Para estudio de virus debe enviarse otra muestra independiente.
- La muestra se debe obtener antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras para cultivo bacteriano se conservarán a temperatura ambiente durante un máximo de 24 horas.
- Las muestras para estudio de virus se conservarán refrigeradas a 4°C (máximo de 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.
- No se aceptarán las muestras para PCR que se obtengan mediante torundas con medio de transporte para bacterias.

Comentarios

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Indicar la localización anatómica de la lesión.

19.2. Petequia

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.

Microorganismos que pueden aislarse en una petequia.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Neisseria meningitidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i>

Material necesario para realizar la toma de muestra

- Alcohol de 70°C.
- Povidona iodada.
- Torundas de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies.
- Portaobjetos.
- Lanceta estéril.

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la piel con alcohol 70°C y desinfectar con povidona iodada dejando secar 60 segundos.
- Pinchar una petequia con la lanceta.
- Presionar los bordes hasta que salga una gota de sangre.
- Impregnar la torunda para realizar cultivo.
- Volver a presionar los bordes hasta que salga una segunda gota de sangre.
- Hacer impronta con el portaobjetos para realizar tinción de Gram.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda una gota de sangre para cultivo y una segunda gota para tinción de Gram.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano es suficiente una muestra.
- La muestra se debe obtener antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra debe sembrarse inmediatamente.

- Si no es posible sembrar la muestra, se conservarán en la estufa a 37°C hasta su procesamiento en un plazo máximo de 24 horas.

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo que se obtengan mediante torundas sin medio de transporte y aquellas que se obtengan en condiciones no estériles.

Comentarios

- El cultivo de la muestra de sangre de una petequia se utiliza para diagnosticar infecciones diseminadas. Se debe solicitar hemocultivo en todos los casos.
- La tinción de Gram permite un diagnóstico presuntivo rápido pero la sensibilidad es baja (menor del 50%).
- El cultivo también tiene una sensibilidad baja.
- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Indicar la localización anatómica de la lesión.

19.3. Pestaña

Procedimiento microbiológico más habitual

- Examen en fresco (observación del microorganismo en el folículo).

Microorganismos con significado clínico que pueden observarse

- *Demodex folliculorum* o *Phthirus* spp.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Contenedor estéril con cierre hermético y pinzas estériles.

Técnica para obtener la muestra

- Recoger las pestañas mediante una pinza estéril, arrancándolas desde la raíz.
- Depositarlas en el contenedor estéril.

Volumen o cantidad necesaria

- Es suficiente una pestaña.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente el envío de una muestra.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra se depositará en un contenedor estéril y se enviará lo antes posible al laboratorio.

Muestras inadecuadas

- Las muestras que no cumplan las condiciones descritas anteriormente.

Comentarios

- *Demodex folliculorum* es un ácaro que vive en los folículos pilosos y glándulas sebáceas del área cefálica.

19.4. Leche materna

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.

Microorganismos que pueden aislarse en la leche materna.

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	Staphylococcus coagulasa negativos (<i>S. epidermidis</i> , <i>S. lugdunensis</i> , etc) <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> del grupo <i>viridans</i>	<i>Enterococcus</i> spp. <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> <i>Micrococcus</i> spp. <i>Cutibacterium avidum</i> . <i>Corynebacterium</i> spp.

Material necesario para realizar la toma de muestra

- Povidona iodada o clorhexidina
- Contenedor estéril con cierre hermético.

Técnica para obtener la muestra

- Lavarse las manos.
- Desinfectar la piel.
- Recoger la muestra en un contenedor estéril tras descartar las primeras gotas.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Es suficiente 1 ó 2 mL

Número de muestras y momento de la extracción

- Si es unilateral, se recogerá una sola muestra.
- Si es bilateral, se recogerá una muestra por mama. Cada muestra se recogerá en un contenedor independiente. Comenzar por la mama más afectada.
- Las muestras se deben obtener antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras se conservarán a temperatura ambiente durante un máximo de una hora.
- Las muestras se refrigerarán si la entrega es mayor de una hora y menor de 12 horas.
- Congelar la muestra si el tiempo de entrega es mayor de 12 horas.
- Evitar la exposición a la luz.

Muestras inadecuadas

- Las muestras que no cumplan las condiciones descritas anteriormente.
- Muestras obtenidas mediante “sacaleches”.

Comentarios

- La leche materna no es estéril. La mastitis lactacional se debe a la proliferación de bacterias de la leche (estafilococos y estreptococos). Estas bacterias no deben considerarse como contaminantes cuando crezcan en cultivo con recuentos significativos.
- El aislamiento de bacilos gram negativos o *Candida* spp. en una mastitis lactacional debe hacer sospechar de posible contaminación de la muestra por recogida inadecuada.
- La mastitis no lactacional está relacionada con la presencia de erosiones, heridas o grietas en el pezón.