

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades

Infecciosas y Microbiología Clínica

Editor: **Juan J. Picazo**

1.

Recogida, transporte y
conservación de las
muestras

1 9 9 3

Coordinador: **Gonzalo Piédrola de Angulo**

José Elías García Sánchez
M^a Luisa Gómez-Lus Centelles
Fernando Carlos Rodríguez López
Aurora Torreblanca Gil

INDICE

- 1.- Introducción y Objetivos.
- 2.- Normas básicas generales.
- 3.- Hemocultivo.
- 4.- Urocultivo.
- 5.- Tracto gastrointestinal
 - 5.1.- Heces (coprocultivo).
 - 5.2.- Hisopos Rectales.
 - 5.3.- Muestras digestivas altas
 - 5.4.- Otras muestras digestivas bajas.
- 6.- Tracto respiratorio
 - 6.1.- Tracto respiratorio Superior
 - 6.2.- Tracto respiratorio Inferior
- 7.- L.C.R.
- 8.- Líquidos orgánicos.
- 9.- Tracto Genital.
 - 9.1.- Tracto genital femenino.
 - 9.2.- Tracto genital masculino
 - 9.3.- Muestras para el estudio de clamidias y micoplasmas.
- 10.- Exudados oculares.
- 11.- Exudados óticos.
- 12.- Piel y tejidos blandos.
- 13.- Muestras odontológicas.
- 14.- Catéteres y drenajes.
- 15.- Biopsias
- 16.- Necropsias.
- 17.- Médula ósea.
- 18.- Otras investigaciones en sangre y suero.
- 19.- Investigación de microorganismos especiales.
 - 19.1.- Anaerobios
 - 19.2.- Micobacterias.
 - 19.3.- Hongos
 - 19.4.- Parásitos intestinales y no intestinales.
 - 19.5.- Virus.
- 20.- Bibliografía

1. RECOGIDA, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS 1993

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas se basa en el estudio de los síntomas y signos clínicos, así como en la demostración de la presencia de su agente productos o de la huella que éste ha dejado en su contacto con el sistema inmunocompetente del individuo. El diagnóstico clínico es en muchos casos bastante demostrativo para el médico bien avezado en recoger los datos que la historia clínica y la exploración le ofrecen, pero, aún así, este diagnóstico deberá ser confirmado por un diagnóstico de laboratorio. Aún más, hay casos en que por la clínica sólo se puede llegar al diagnóstico del agente causal. Por otro lado un mismo microorganismo puede dar una gran variedad de cuadros clínicos, en una o varias localizaciones. Por todo ello, la única confirmación de un diagnóstico clínico es el diagnóstico etiológico, que ofrece el laboratorio de microbiología clínica.

Toda la información diagnóstica que el laboratorio de microbiología puede proporcionar, depende de la calidad de la muestra recibida. Por ello, una toma mal realizada, pobremente recogida o mal transportada determinará un posible fallo en la recuperación de los agentes patógenos o de la microbiota normal, que puede inducir a errores diagnósticos, e incluso a un tratamiento inadecuado del enfermo. Este hecho es bien conocido de los microbiólogos, pero no tanto de muchas de las personas que realizan las tomas en clínicas, salas y consultas, por lo que es necesaria la preparación continuada de dicho personal sanitario, al que hay que concienciar del gasto inútil y la falsedad de los datos obtenidos a partir de una analítica realizada de forma inadecuada.

El objetivo de este trabajo es realizar una puesta al día de la recogida, transporte y conservación de las muestras microbiológicas reseñando el material necesario, la técnica de obtención, volumen, número y transporte de cada una de ellas, según las distintas localizaciones y características especiales de aquellas o de los microorganismos a investigar.

Aunque cada capítulo ha sido realizado por su autor, la lectura conjunta por los autores de la Subcomisión y las múltiples reuniones de la discusión científica y positiva, nos han

llevado a la responsabilización conjunta de todo lo escrito, que esperamos sea de utilidad y consulta para todo al que estos procedimientos acuda.

2. NORMAS BÁSICAS GENERALES

Son muchas las consideraciones generales que deben guiar la recogida y envío de muestras microbiológicas, con criterio didáctico y no solamente temporalmente, ya que muchas de ellas son simultáneas, podemos estudiarlas en los siguientes apartados: volante o vale de petición, obtención de la muestra, recogida de la misma y transporte.

2.1 Vale de petición.

Cada muestra deberá ir acompañada de un volante de petición a ser posible con copia autocalcable, que deberá estar correcta, legible y completamente cumplimentada. Cada laboratorio tiene sus modelos propios, único o varios (bacteriología, serología, micología o parasitología), muy detallados o no. En general, cada petición debería suministrar al laboratorio la suficiente información para que la muestra se procesara convenientemente y se interpretarán los resultados; sin embargo, no siempre sucede así con lo que se evitan errores en la transcripción y se ahorra tiempo de procesamiento; en este caso, el papel autocopiable es imprescindible. Las copias sirven para la comparación de cultivos repetidos, el control de las infecciones hospitalarias, las futuras investigaciones o peticiones judiciales; una copia siempre quedaría de control en el laboratorio. Si el vale de petición y el impreso de resultados no van unidos, éste último precisará todas las copias antes citadas. La utilización de ordenadores en el área administrativa de los laboratorios facilita enormemente el almacenamiento y recuperación de los datos de todo tipo, ya programados.

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

1. Filiación y datos administrativos, donde se deben especificar el nombre y apellidos, sexo y edad del paciente, el médico solicitante y el centro, servicio, o consulta al que pertenezca, así como cualquier otro dato de identificación, como el número de cama, de afiliación a la Seguridad Social, de historia clínica, etc.

2. Datos clínicos, como fecha del comienzo de la enfermedad, diagnóstico clínico de presunción, estado inmunitario del paciente, etc. Todos estos datos son de gran interés para orientar las técnicas que hay que seguir.

3. Datos de la muestra, como fecha de la obtención y, en algunos casos, la hora, naturaleza del producto y exacta localización de la toma, así como el procedimiento de extracción, o si se ha seguido alguna técnica especial (punción transtraqueal, vesical, etc.)

4. Terapéutica seguida: antibióticos, que se han administrado y tiempo desde la última toma o inyección. El ideal es que todas las muestras se tomarán antes de empezar un tratamiento antibiótico.

5. Área para la solicitud, indicando claramente el tipo o tipos de determinaciones que se desean, y en caso de que se desee la búsqueda de un microorganismo determinado, se reseñará éste (*M. tuberculosis*, *Mycoplasma*, etc.).

Muchos laboratorios añaden una sexta área, en la que se hace constar la fecha y hora de entrada de la muestra en el laboratorio, hecho que ha de tenerse en cuenta especialmente en las peticiones de urgencia, que en muchos centros poseen un vale de distinto color (p.ej. rojo) al de los normales.

Existen muchos modelos de vales, algunos de ellos con los datos preimpresos, para que solo sea necesario marcar los correspondientes a cada uno.

El volante puede poseer también un espacio en blanco para la emisión de los resultados. Con el uso generalizado de los ordenadores, estos dan directamente los resultados de muchas pruebas, enviándose los datos de la impresora al Servicio solicitante, a la vez que se almacenan con las finalidades más arriba citadas. Así mismo, es muy útil que los vales estén numerados, y que lleven 3 ó 4 etiquetas adhesivas con el mismo número para adherir al recipiente de la muestra.

2.2 Obtención de la muestra.

Hay situaciones en que es conveniente la toma junto a la cama del enfermo, como en hemocultivos y líquido cefalorraquídeo (LCR), pero en otras es imprescindible realizarla en el propio laboratorio como en exudados genitales que requieren una observación en fresco al microscopio (*chancro sifilítico*, *trichomonas*) y siembra inmediata (*Chlamydia*, *Ureaplasma*).

En líneas generales en toda la localización es necesario que la toma se efectúe en el sitio exacto de la lesión con las máximas condiciones de asepsia que eviten la contaminación con microbios exógenos, que la muestra nunca se ponga en contacto con antisépticos o desinfectantes, que la toma sea lo más precoz posible y que se prefieran siempre los productos purulentos frescos líquidos (recogidos por aspiración directa con geringa) o tejidos sospechosos, a las muestras tomadas con hisopos o torundas con algodón. Se tomarán cantidades adecuadas de la muestra, que se estudiarán con detalle en cada uno de los apartados siguientes.

Todas las muestras deben recogerse antes de la instauración del tratamiento antibiótico. Cuando esto no es posible, se obtendrán justo antes de la administración de la dosis del antimicrobiano, o tras 48 horas de la retirada del mismo, indicándolo en el vale de petición.

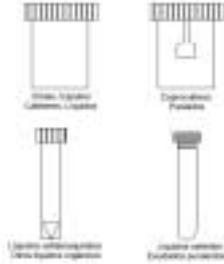
2.3 Recogida de la muestra.

Cada tipo de muestra requiere un material estéril para recogida e incluso transporte de la misma. Aunque éste se estudia con detenimiento en cada uno de los apartados correspondientes, en las páginas siguientes se recogen los principales envases, contenedores, hisopos, tubos, etc, de uso en el laboratorio de microbiología.

2.4 Transporte.

Todas las muestras deberán ser enviadas lo más rápidamente posible al laboratorio, por desgracia es casi imposible que sean transportadas y procesadas dentro de las dos primeras horas de recogida, con escasas e importantes excepciones (LCR en meningitis agudas), problema que se agrava en las tomas efectuadas durante la noche o desde lugares alejados geográficamente del laboratorio. La mayoría de las bacterias resisten bien las temperaturas bajas, por lo que los productos pueden mantenerse en la nevera unas horas, pero el LCR (el meningococo es muy sensible al frío), exudados, heces y muestras de anaerobios no deben ser refrigerados (2°-8°C). En todos los casos, el envío de la muestra debe evitar la salida (y posible contaminación) del contenido, por lo que el recipiente debe de cerrarse con seguridad, o utilizar un doble recipiente, siempre quedarán claras la identidad de la muestra, de la persona a quien pertenece, y los servicios solicitante y receptor.

ENVASES / CONTENEDORES



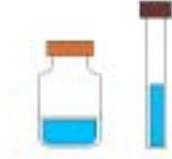
Cuando la viabilidad de las bacterias es muy escasa o la posibilidad de desecación de la muestra es grande (favoreciéndose la destrucción bacteriana) y la toma no puede realizarse en el mismo laboratorio, se usarán medios de transporte. Se trata de medios, tales como el Stuart o Amies, que no son nutritivos, sino que preservan las bacterias existentes, sobre todo si son escasas, a la vez que impiden el crecimiento exagerado de otra flora bacteriana no deseada. Estos medios existentes en el comercio pueden ser para bacterias aerobias o anaerobias, y aunque pueden conseguir supervivencias de hasta 24 horas a temperatura ambiente, deberán

enviarse también lo más rápidamente posible al laboratorio.

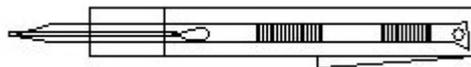
Mención especial requiere cualquier tipo de muestras obtenidas a partir de enfermos con presumible o demostrada hepatitis vírica o SIDA, por ser infectivos no sólo el suero, sino todas las secreciones. Las muestras serán debidamente señalizadas para prevenir la posibilidad de contagio del personal, para ello, en muchos laboratorios se utilizan etiquetas de color amarillo o rojo, con el fin de hacer más visible su procedencia.

En casos de envíos por correo, siempre se seguirán las normas existentes para el transporte de productos biológicos peligrosos.

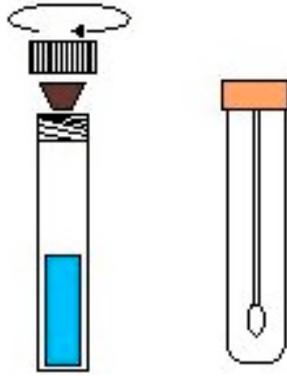
SISTEMAS DE TRANSPORTE ESPECIFICOS PARA EL ESTUDIO DE ANAEROBIOS 1º Viales y tubos con atmósfera anaerobia y base de ágar con indicador para transporte de líquidos o hisopos



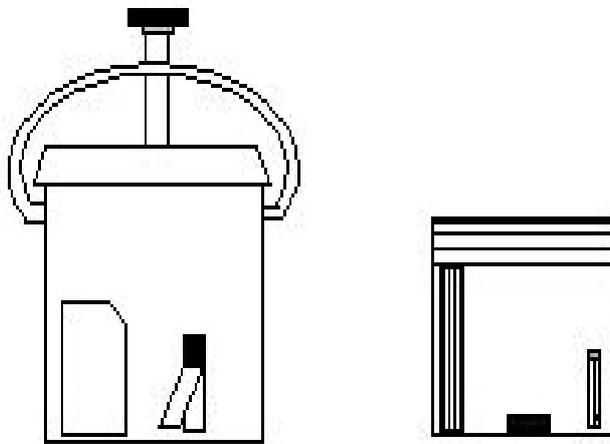
2º Hisopos con atmósfera anaerobia



3º Tubos con atmósfera anaerobia y medio de transporte prerreducido para líquidos e hisopos



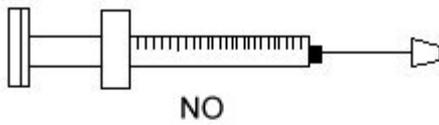
4º Bolsas y jarras de anaerobios



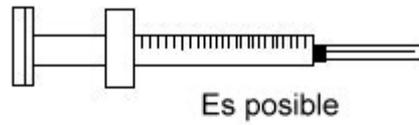
TRANSPORTE DE MUESTRAS PARA ESTUDIO DE ANAEROBIOS

1º Muestras líquidas

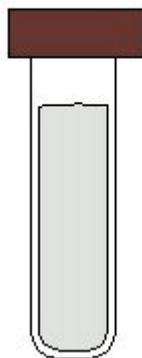
- a) Jeringuillas
- b) Tubos



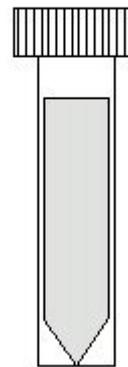
NO



Es posible

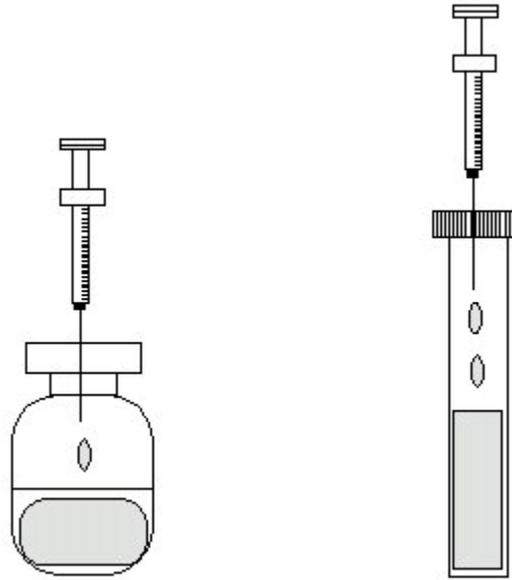


Tubo de presión negativa

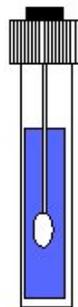
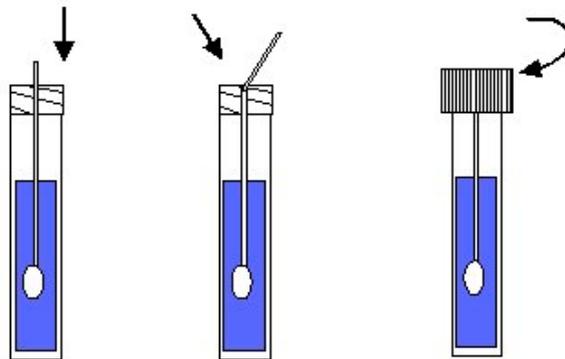
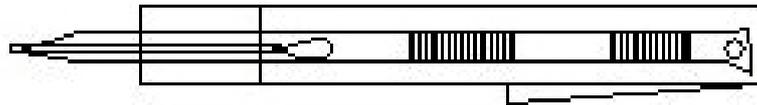


Tubo de tapón de rosca

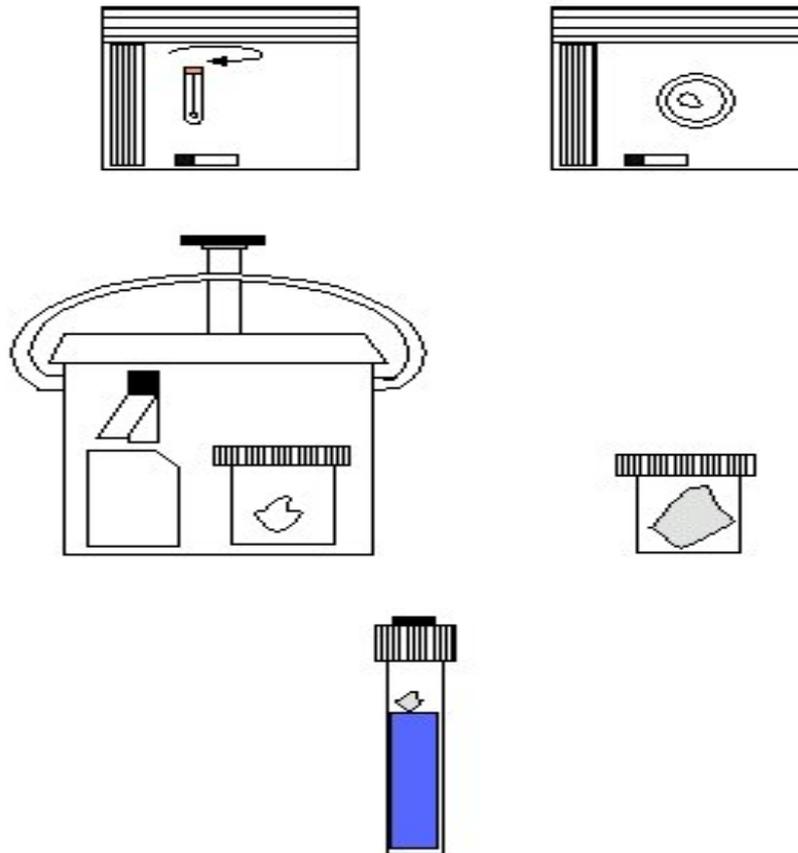
c) Viales o tubos con atmósfera anaerobia



2º Hisopos



3º Tejidos



3. HEMOCULTIVO.

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. OBTENCION DE LA MUESTRA.

- Retirar los tapones externos de los frascos.
- Desinfectar los tapones de goma con alcohol iodado o con iodóforo, dejándolo secar al menos un minuto.
- Localizar por palpación la vena que se va a puncionar. Debe utilizarse una vena distinta para cada extracción.
- Desinfectar con alcohol una zona de piel de unos 10 cm de diámetro. Se comenzará por el centro y se irán haciendo círculos concéntricos hacia el exterior.
- Repetir el paso anterior pero con el alcohol iodado, dejándolo secar durante un minuto.
- Extraer la sangre sin tocar en ningún momento el campo desinfectado. Si fuera necesario palpar nuevamente la vena se utilizarán guantes de goma estériles o se desinfectarán los dedos de la misma manera que la piel del paciente.

- Introducir la sangre en los frascos evitando que entre aire en el frasco para cultivo en anaerobiosis. La ventilación se realizará en el laboratorio de Microbiología. Mover los frascos para que la sangre y el medio de cultivo se mezclen. Introducir los frascos a 37°C.

C. VOLUMEN DE LA MUESTRA.

La cantidad de sangre a introducir en cada frasco viene determinada por el modelo utilizado en cada hospital, entre 15-20 ml por toma en adultos y 1-3 ml en niños. Como norma general es adecuado que la sangre mantenga una proporción 1:10 con el medio de cultivo. Es decir, para un frasco de 100 ml, introducir 10 ml. de sangre. En caso de neonatos y niños pequeños en que no se pueden obtener volúmenes grandes de sangre es suficiente una cantidad de 1-5 ml, que se introduce en un solo frasco.

D. NÚMERO DE MUESTRAS.

Tres hemocultivos por paciente, previos al tratamiento antimicrobiano. El intervalo entre las extracciones debe ser superior a una hora cuando sea posible, pero cuando exista una gran urgencia en iniciar el tratamiento, este intervalo puede acortarse hasta 15 minutos. En caso de sepsis y endocarditis subaguda las extracciones se

reparten en 24 horas y en caso de que sean los hemocultivos negativos, obtener tres muestras más al día siguiente.

E. TRANSPORTE.

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

F. OBSERVACIONES.

Cuando no haya venas accesibles puede realizarse la extracción de sangre arterial. No son adecuadas las muestras procedentes de catéter, solamente en caso de que se sospeche infección del propio catéter y se complica su retirada; se recomienda tomas del brazo opuesto y otras del brazo del catéter, para saber si es intra o extraluminal.

En caso de sospecha de determinados microorganismos (*Brucella spp*, *Neisseria gonorrhoeae*...) ponerse en contacto con el laboratorio de Microbiología.

4. UROCULTIVOS.

1. ORINA OBTENIDA POR MICCIÓN MEDIA.

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. OBTENCION DEL PRODUCTO.

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

Técnicas para mujeres.

- La paciente debe quitarse la ropa interior.
- Se lavará las manos cuidadosamente con agua y jabón, las enjuagará con agua y las secará con una toalla limpia.
- Se separarán los labios mayores y menores, y los mantendrá separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.
- Con una gasa enjabonada se lava bien la vulva pasándola de delante hacia atrás, se repetirá el proceso un total de 4 veces.

- Enjuagar cuidadosamente con agua hervida para eliminar los restos de jabón.
- Se indicará a la paciente que orine desechando los 20-25 primeros mililitros, tras lo cual y sin interrumpir la micción, se recogerá el resto de la orina en el recipiente.
- El frasco debe sujetarse para que no tome contacto con pierna, vulva o ropa del paciente. Los dedos no deben tocar el borde del frasco o su superficie interior.

Técnica para hombres.

- Lavado de las manos con agua y jabón.
- Retraer completamente el prepucio, que se mantendrá así en todo momento, hasta que se haya recogido la orina.
- Limpiar el glande con jabón neutro.
- Eliminar los restos de jabón enjuagándolo con agua hervida.
- Se pedirá al paciente que orine desechando los primeros 20-25 mililitros para, sin interrumpir la micción, recogerse el resto de la orina en el recipiente estéril.

Técnica para niños.

- En niños y niñas mayores la orina se recoge de forma similar a los adultos.
- En niños y niñas más pequeños, la orina se recogerá en colectores o bolsas estériles especialmente diseñadas para ellos de la siguiente forma:
 - * Lavado cuidadoso de los genitales y área perineal igual que en los adultos.
 - * Colocar la bolsa de plástico o el colector.
 - * Vigilar la bolsa cada 30 minutos y tan pronto como el niño haya orinado, deben retirarse y enviarse al laboratorio para su procesamiento.
 - * Si la micción no se ha realizado en una hora, se repite la operación colocando una nueva bolsa.

C. VOLUMEN MINIMO DE LA MUESTRA.

Es suficiente un volumen de orina de 5-10 ml. (Tabla nº1).

D. TRANSPORTE.

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

TABLA 1: RECOMENDACIONES SOBRE EL VOLUMEN DE ORINA

DETERMINACION	VOLUMEN (ml)	COMENTARIOS
---------------	--------------	-------------

BACTERIA	0,5-1	PRIMERA ORINA DE LA MAÑANA.
HONGOS	>20	PRIMERA ORINA DE LA MAÑANA.
MYCOBACTERIAS	>20	PRIMERA ORINA DE LA MAÑANA TRES DÍAS CONSECUTIVOS.
ANAEROBIOS	1	ASPIRADO SUPRAPÚBICO, ENVIAR EN UN SISTEMA DE TRANSPORTE PARA ANAEROBIOS
VIRUS	10-15	PRIMERA ORINA DE LA MANANA, ENVIAR CON HIELO Y TRANSPORTAR AL LABORATORIO INMEDIATAMENTE.
PARÁSITOS.		ORINA DE 24 HORAS.

E. OBSERVACIONES.

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

2. ORINA VESICAL.

Es la orina obtenida por punción suprapúbica o por cistoscopia. La punción suprapúbica requiere un buen conocimiento de la técnica y de las precauciones que hay que adoptar, con rigurosa asepsia, descartando problemas de hemostasia y con la vejiga palpable y previa desinfección y anestesia local; se punciona ésta a 1,5 cm. de la sínfisis pubiana, en la línea media,

estando el paciente en decúbito supino, con una jeringa de 10 ml. y con aguja larga (calibre 19) se aspira el contenido vesical (fig. 1). En caso de orina obtenida por punción suprapúbica se enviará al laboratorio lo antes posible en la misma jeringa de la extracción, tras expulsar el aire de su interior y con la aguja pinchada en un tapón de goma estéril, indicando en volante adjunto, procedencia de la muestra o técnica empleada para su recogida (dato importante a la hora de valorar el recuento de colonias).

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

3. ORINA DE PACIENTES CON CATETER PERMANENTE.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Gasas.
- Alcohol 70° o solución yodada.
- Jeringa o aguja estéril.
- Recipiente estéril

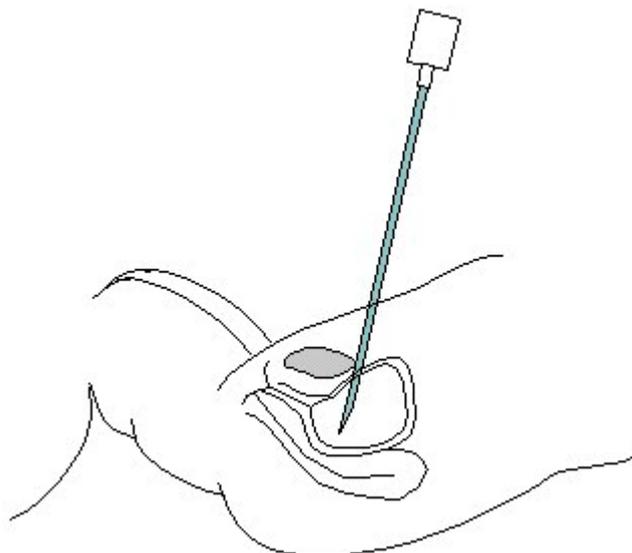


Figura 1: Punción suprapúbica.

B. OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

- Se limpiará con catéter con una gasa humedecida en alcohol o solución yodada. Dejamos secar unos minutos.

-Pinchar directamente con la aguja el catéter, por la zona desinfectada, aspirando entre 3-5 ml.

C. TRANSPORTE.

Puede enviarse en la jeringa o pasar la orina a un recipiente estéril. Si no puede llevarse al laboratorio, se debe refrigerar a 4°C.

D. OBSERVACIONES.

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

5. TRACTO GASTROINTESTINAL

5.1 HECES.

A. MATERIAL NECESARIO.

-Recipiente de boca ancha para recoger las heces, tipo orinal, bacinilla o cuña. No es necesario que esté estéril, sólo es preciso que esté limpio. No contendrá restos de jabones, detergentes, desinfectantes o iones metálicos.

-Recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético para enviar la muestra. Puede ser válido el empleado para recoger orinas, aunque es preferible utilizar un recipiente que tenga espátula para tomar la muestra de las heces.

-Medios o sistemas de transporte para heces. Se emplean sólo si la remisión de la muestra se retrasa y los distribuye el laboratorio de Microbiología. Existen sistemas comerciales para bacterias (Cary-Blair o modificaciones o solución de glicerol tamponado) o para parásitos con el fin de fijarlos [PVA (alcohol polivinílico /10% de formalina), SAF (acetato sódico/ácido acético/formalina), MF].

-Espátulas, cucharillas o depresores.

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

- Si son formadas o pastosas se toma una porción del recipiente donde hayan sido emitidas y se transfieren al sistema elegido para el envío al laboratorio. Se seleccionan zonas donde haya sangre, moco o pus.

No son válidas las muestras contaminadas con orina. No debe utilizarse para la recogida papel higiénico, porque suelen

tener sales de bario que inhiben algunas bacterias enteropatógenas.

C. VOLUMEN MÍNIMO.

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

D. TRANSPORTE.

- Para el estudio bacteriológico es suficiente enviar la muestra en un recipiente estéril si se va a procesar en el plazo de 1 ó 2 horas después de su emisión. En caso contrario se remite en un sistema de transporte para bacterias. En ambos casos se mantiene en refrigeración hasta el procesamiento, para evitar el sobrecrecimiento de la flora normal que puede enmascarar o destruir a los enteropatógenos. El frío puede afectar la viabilidad de *Shigella spp.* Para el estudio de toxinas de *C. difficile*, la muestra se puede mantener hasta 48 horas en refrigeración, congelada a -20°C se puede mantener indefinidamente. Este tipo de muestra, preferiblemente sin medio de transporte, es indispensable para el examen en fresco, el ensayo de las toxinas de *C. difficile*, detección por concentración de huevos o parásitos y estudios virológicos (cultivos, inmunoelectromicroscopía, ELISA, o látex para rotavirus).

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

E. OBSERVACIONES.

- Las muestras para coprocultivo, deberán tomarse antes de la administración de antimicrobianos o agentes antidiarréicos. Es conveniente también evitar, sobre todo para estudios parasitológicos la utilización previa de antiácidos y laxantes oleoso, así como de los compuestos habitualmente utilizados para estudios radiológicos digestivos (bario, bismuto).

- Indicar siempre el juicio diagnóstico de presunción y si el paciente es menor de un año.

- Solicitar las investigaciones especiales explícitamente (*C. difficile*, *C. perfringens*, *S. aureus*, etc.).

- Si con la primera muestra no se detecta la presencia de enteropatógenos, es necesario enviar en los días siguientes, dos tomas adicionales. En general, para los estudios parasitológicos, se deben enviar tres muestras tomadas en diferentes días.

F. MUESTRAS INADECUADAS.

- Muestras fecales.

- Heces emitidas anteriores a dos horas y que no hayan sido refrigeradas.

- Las tres tomas realizadas el mismo día.

5.2 HISOPOS RECTALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Hisopos rectales con medio de transporte.

- Guantes.

B. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

En general debe desaconsejarse su uso, aunque hay que recurrir a él si no se puede disponer de heces, como en neonatos o adultos debilitados. Se ha demostrado eficaz en el aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*, *Campylobacter spp.*, *Shigella spp.* (protege de la desecación), *C. difficile*, especialmente en el hospital, virus herpes simplex y en portadores anales de *Streptococcus pyogenes*. No es válido para la búsqueda de antígenos. Para realizar la toma se introduce el hisopo sobrepasando un poco el esfínter anal y se rota para hacer la toma de las criptas anales, dejar 10 a 30 segundos para que se absorban los microorganismos y retirar. Una vez realizado se introduce en un medio de transporte.

C. TRANSPORTE.

Se introducen inmediatamente en medio de transporte adecuado (Stuart, Cary-Blair, para anaerobios en el caso de *C. difficile*), pues así se protege a las bacterias de la desecación y se envía rápidamente al laboratorio.

D. OBSERVACIONES.

Son válidas las referentes a las heces.

E. MUESTRAS INADECUADAS.

- Hisopos rectales secos.

- Hisopos rectales sin medio de transporte.

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

5.3 MUESTRAS DIGESTIVAS ALTAS.

1. ASPIRADOS.

- Lavado gástrico, aspirado duodenal.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Tubo de lavado gástrico.

- Recipientes estériles de boca ancha, tubo de tapón de rosca, tubo de vacío.

- Medio de transporte para parásitos.

- Cápsula de Entero-test.

- Solución salina.

B. TOMA DE MUESTRAS.

Lavado gástrico: (ver tema de muestra para estudio de micobacterias).

Aspirado duodenal: Para la búsqueda de *Giardia intestinalis*, *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*. Introducir el tubo a través de la boca hasta alcanzar el duodeno y aspirar; para la búsqueda de *G. intestinalis* es necesario llegar a la tercera porción del duodeno. Como método alternativo, existe la posibilidad de la cápsula duodenal, (ver toma de muestra para estudio de parásitos).

C. VOLUMEN MÍNIMO.

- De 0,5 a 3 ml en el aspirado duodenal.

D. TRANSPORTE.

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

- Mantener las muestras a temperatura ambiente.

2. BIOPSIA Y TOMAS OBTENIDAS POR ENDOSCOPIA.

A. INDICACIONES.

- Biopsia esofágica: candidiasis e infecciones por Citomegalovirus y HSV

- Biopsia gástrica y duodenal: *Helicobacter pylori*.

- Biopsia de intestino delgado: *G. intestinalis*, *Cryptosporidium*, *Microsporidium*.

B. MATERIAL NECESARIO.

Endoscopio y material complementario.

- Tubos estériles de tapón de rosca.

- Tubos estériles de tapón de rosca con caldo tioglicolato para *H. pylori*.

- Tubos de transporte con medio para parásitos.

- Tubos de transporte con medio para virus.

- Tubos con solución salina para muestras pequeñas.

C. TOMA DE MUESTRAS.

- Introducir oralmente el endoscopio y recoger la biopsia mediante pinzas, cepillado reiterado o lavado (25-30 ml de solución salina) con posterior aspiración del material.

- En sospecha de infección por *H. pylori* es fundamental obtener varias muestras tanto de la base como de los cuatro cuadrantes del margen de la úlcera, sin olvidar la biopsia de la mucosa antral.

5.4 OTRAS MUESTRAS DIGESTIVAS BAJAS.

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

A. MATERIAL NECESARIO.

- Sigmoidoscopio, rectoscopio y material complementario.

- Pipetas.

- Tubos de tapón de rosca estériles con o sin solución salina.

- Tubo de transporte para anaerobios.

B. TOMA DE MUESTRA.

Biopsia rectal: emplear pinzas para tomar muestras de las lesiones o de la mucosa rectal posterior a unos 7-10cm del esfínter anal.

Sigmoidoscopia: toma con pinzas o con pipeta, para la búsqueda de parásitos se realizan después de la defecación normal o 2-3 horas después de una defecación conseguida con laxantes.

C. TRANSPORTE.

- En tubo de tapón de rosca. Si la muestra es pequeña o se va a dilatar el envío se emplearán tubos con solución salina para evitar la desecación.

- El envío debe ser inmediato y la conservación adecuada; si se sospecha *C. difficile* emplear medio para transporte de anaerobios. Para la búsqueda de parásitos se envía inmediatamente al laboratorio o en su defecto las muestras tomadas con pipeta se incluirán en fijador.

6. TRACTO RESPIRATORIO.

6.1 TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR.

1. FARINGO-AMIGDALINO.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Depresor lingual.

- Torunda de algodón sin medio de transporte (fig. 5).

B. TÉCNICA.

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

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Basta con una torunda.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

No requiere medidas especiales para su transporte y conservación.

D. OBSERVACIONES.

Se investigará rutinariamente la presencia de *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo A (*S. Pyogenes*).

En las sospechas de difteria deberán mandarse porciones de membrana, una torunda faríngea y una torunda nasofaríngea por vía pernasal.

2. NASOFARINGE.

Es la muestra indicada para la investigación de *Bordetella pertussis*.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Torundas flexibles de alginato cálcico.

- Para aspirados: Tubo aspirador de Teflón o jeringa y catéter.

B. TÉCNICA.

Frotis: pasar la torunda a través de la nariz suavemente, hasta llegar a la nasofaringe. Hay que mantener la torunda cerca del septum y suelo de la fosa. Rotar la torunda y extraerla.

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

C. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Ante la sospecha de *Bordetella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Corynebacterium diphtheriae*, o para la detección de portadores de *Staphylococcus aureus* o *Neisseria meningitidis*.

D. MATERIAL NECESARIO.

- Torundas de alginato cálcico flexibles.

E. TECNICAS.

Introducir la torunda unos 2 cm en la nariz, girar suavemente contra la mucosa de la superficie nasal y extraer.

NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.
Las muestras deben procesarse antes de 2 horas.

OBSERVACIONES.

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

SENOS PARANASALES.

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

A. MATERIAL NECESARIO.

- Povidona iodada al 10%.
- Contenedor estéril.
- Medio de transporte para anaerobios.
- Material quirúrgico de O.R.L.

B. TÉCNICA.

- Desinfectar el lugar de la punción con Povidona.
- Introducir una aguja en el antrum maxilar por debajo del cornete inferior, o en el seno frontal por debajo del marco supraorbital del ojo.
- Aspirar el líquido del seno. Cuando no se obtenga líquido, instalar 1 ml de suero salino estéril y aspirarlo nuevamente.
- Inyectar una parte de la muestra en un medio de transporte para anaerobios y enviar el resto en un contenedor estéril o en la propia jeringa.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se intentará obtener al menos 1 ml de muestra.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

Deben enviarse inmediatamente al laboratorio utilizar un medio de transporte.

4. CAVIDAD ORAL.

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

A. MATERIAL NECESARIO.

- Torundas de algodón sin medio de transporte.
- Portas limpios.

B. TÉCNICA.

- Se pedirá al paciente que se enjuague la boca con agua.
- Tras enjuagar la boca, frotar o raspar las lesiones con una espátula o con una torunda y hacer una extensión sobre un porta.
- Se repetirá la toma con una segunda torunda para cultivo (sólo para la investigación de *Candida albicans*).

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

1 extensión en porta + 1 torunda.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

No requiere medidas especiales para su transporte y conservación.

6.2 TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR.

- 1.- Espujo, espujo inducido.
- 2.- Jugo gástrico.
- 3.- Aspirado traqueobronquial simple.
- 4.- Punción transtraqueal (P.T.T.).
- 5.- Muestras obtenidas a través de fibrobroncoscopia.
 - 5.1.-Broncoaspirado (BAS).
 - 5.2.- Cepillado bronquial con catéter telescópico. (CBCT) (catéter telescópico de doble luz ocluido en su extremo distal. CTO).
 - 5.3.- Lavado broncoalveolar (LBA). Protegido o no.
 - 5.4.-Biopsia transbronquial (BTB).
 - 5.5.-Punción pulmonar transbronquial.
- 6.- Muestras obtenidas por abordaje percutáneo.
 - 6.1.-Punción pulmonar aspirativa (PPA) Transtorácica.
 - 6.2.-Punción biopsia pulmonar.
 - 6.3.-Biopsia pulmonar con toracoscopio.
 - 6.4.-Biopsia pulmonar por taricotomía (BPT).
- 7.-Muestras extrapulmonares.
 - 7.1.-Líquido pleural.
 - 7.2.- Biopsia pleural.
 - 7.3.- Sangre venosa.

1. ESPUTO, ESPUTO INDUCIDO.

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

su procesamiento, tipo de agente que se pretenda detectar y valoración adecuada del resultado.

A.MATERIAL NECESARIO.

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

B.TÉCNICA O METODOLOGÍA DE LA OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

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

C.VOLUMEN MÍNIMO.

De 2 a 10 ml, si es posible.

D.TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Envío inmediato al laboratorio (no superior a 2 horas).

Si no es posible, conservar en frigorífico 4°C.

E.OBSERVACIONES.

- Es preferible realizar la toma antes de instaurar el tratamiento antibiótico.
- No es útil para anaerobios.
- No son inoculables las secreciones de sospechosa procedencia.
- La expectoración debe rechazarse hasta obtener un esputo de calidad suficiente (mas de 25 leucocitos polimorfonucleares por campo 100x, y de 10 células epiteliales por campo 100x).

2. JUGO GASTRICO.

En niños pequeños o en pacientes que no expectoran y tragan sus esputos, puede realizarse una aspiración gástrica tras un periodo de ayuno de 8 horas. Válido no sólo para un número muy pequeño de microorganismos especialmente resistentes al pH gástrico, como micobacterias.

3. ASPIRADO TRAQUEOBRONQUIAL SIMPLE.

Obtención con sonda de aspiración.

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

No emplear anestésicos en su obtención por su poder bactericida.

4. PUNCION TRANSTRAQUEAL.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Guantes, paños, gasa estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Alcohol yodado al 1 ó 2% o un iodóforo al 10% como Povidona yodada.
- Solución salina.
- Jeringas estériles.
- Aguja y catéter nº 14-16 (de subclavia).
- Anestésico local / lidocaína al 1-2% con adrenalina.

B. TÉCNICA O METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

De infección de la piel con alcohol yodado o Povidona yodada.

-Introducción del catéter por punción a través de la membrana cricotiroidea, inyectar solución salina y aspirar.

C. VOLUMEN DE LA MUESTRA.

La máxima cantidad de aspirado posible.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Expulsar el aire de la jeringa, pinchar la aguja en un tapón de goma estéril y enviar inmediatamente al laboratorio. Si esto no es posible depositar la muestra en un medio de transporte para anaerobios y mantener a temperatura ambiente hasta su procesamiento.

E. OBSERVACIONES.

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

5. MUESTRAS OBTENIDAS A TRAVES DE FIBROBRONCOSCOPIA.

En términos generales las muestras obtenidas por fibrobroncoscopia salvo el cepillado bronquial por catéter telescópico (CBCT), son muestras contaminadas en mayor o menor grado con flora orofaríngea.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Material específico para broncoscopia.
- Recipiente estéril hermético.
- Tubo estéril con 1 ml de solución Ringer.

- Material de corte estéril.

B. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Enviar inmediatamente al laboratorio. Cuando no sea posible, conservar en frigorífico a 4°C.

C. OBSERVACIONES.

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

D. TÉCNICA O METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

Pueden emplearse las siguientes:

5.1. BRONCOASPIRADO (BAS).

Recogida de secreciones respiratorias a través de fibrobroncoscopio, pudiendo introducirse de 3 a 5 ml de suero fisiológico previo a la aspiración. Con menor grado de contaminación que el esputo.

5.2. CEPILLADO BRONQUIAL POR CATÉTER TELESCOPADO CBCT.

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.

5.3. LAVADO BRONCOALVEOLAR LAB.

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

Indicado especialmente en procesos pulmonares intersticiales.

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

5.4. BIOPSIA TRANSBRONQUIAL BTB.

Obtención de tejido pulmonar mediante técnica broncoscópica.

Posible contaminación de la pinza de biopsia.

Complicaciones: neumotorax, hemorragia.

6. MUESTRAS OBTENIDAS POR ABORDAJE PERCUTÁNEO.

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

A. MATERIAL NECESARIO.

-Material quirúrgico específico para punción.

-Recipiente estéril y hermético.

-Formol al 10%.

-Suero fisiológico.

B.VOLUMEN MÍNIMO.

Si es un producto de aspiración, la mayor cantidad posible. Si es una pieza de biopsia, una cuña de 3ml., cuando sea posible.

C. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

Si es un producto de aspiración, depositar en tubo estéril.

Si es una pieza de biopsia se divide en dos fragmentos: uno se coloca en suero fisiológico o formol al 10% y se envía para estudio anatomo-patológico, y el otro, destinado a ser cultivado en Microbiología, se introduce en un tubo estéril con suero fisiológico.

Debe enviarse inmediatamente al laboratorio.

D. TÉCNICA O METODOLOGIA DE OBTENCION DEL PRODUCTO.

Pueden emplearse las siguientes:

6.1. FUNCION PULMONAR ASPIRATIVA (PPA) TRANSTORÁCICA.

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

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

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

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

6.2. PUNCION BIÓPSICA PULMONAR.

Biopsia transtorácica con trocar. Sólo en casos excepcionales y en caso de lesiones muy periféricas debido al alto riesgo de neumotórax.

6.3. BIOPSIA PULMONAR CON TORACOSCOPIO.

6.4. BIOPSIA PULMONAR POR TORACOTOMÍA BPT.

Permite la selección visual del área neumónica a cielo abierto.

7. MUESTRAS EXTRAPULMONARES.

Obtención por toracocentesis.

7.1 LIQUIDO PLEURAL.

INDICACIONES Y VALORACION DE LAS MUESTRAS RESPIRATORIAS.

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

G: Gram

C: Cultivo habitual

L: Legionella

MY: Mycoplasma

N: Nocardia

A: Anaerobios

MT: Micobacterias

H: Hongos

V: Virus

PC: Pneumocystis carinii

7.2 BIOPSIA PLEURAL.

Cerrada o por pleuroscopia.

7.3 SANGRE VENOSA.

Hemocultivo. Según técnica señalada.

7. LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO

A. MATERIAL NECESARIO.

- Paños estériles.
- Guantes estériles.
- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada.
- Anestésico local.
- Jeringuillas de 5-10 ml.
- Agujas de puncion IM.
- Trócares de punción lumbar de varios tamaños.
- Tubos limpios y estériles con tapón de rosca. Es necesario que estén totalmente

limpios pues la presencia de bacterias muertas por la esterilización puede inducir a errores por tinciones falsamente positivas.

- Sistemas de presión de LCR de un solo uso.

B. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

Se obtendrá antes de instaurar cualquier terapeutica antibiótica.

1.-LCR obtenido por punción lumbar:

- Se localiza la zona elegida para la punción lumbar mediante palpación de los espacios intervertebrales una vez colocado el paciente en la posición adecuada.
- Se desinfecta con alcohol al 70% una zona de uso 10 cm de diámetro en el área elegida, la aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia. Se repite la operación con povidona yodada que se deja secar durante un minuto.
- Realizar la punción entre los espacios inter-vertebrales 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 sin conservantes con tapón de rosca.

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

2. LCR obtenido de reservorio Ommaya:

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

C. VOLUMEN MÍNIMO.

- Para el estudio bacteriológico rutinario es suficiente 1 ml, aunque es preferible disponer de volúmenes superiores.

- Para hongos o micobacterias se necesitan al menos 2 ml adicionales más por cada uno de los estudios, siendo deseable llegar a los 10 ml

- Para estudio de virus se necesita al menos 1 ó 2 ml más.

D. TRANSPORTE.

El producto debe enviarse inmediatamente al laboratorio, pues alguno de los agentes etiológicos como *S. pneumoniae*, pueden lisarse rápidamente a partir de una hora tras su recogida. Si no es posible se mantendrá en estufa a 35-37°C y una parte se incubará en un frasco de hemocultivo que se mantendrá en idénticas condiciones hasta su procesamiento en el laboratorio. Si no se dispone de estufas se mantendrá a temperatura ambiente. Nunca deberá refrigerarse pues se puede afectar la viabilidad de *N. meningitidis* y *H. influenzae*.

En el LCR no se estudian rutinariamente anaerobios. En caso de solicitar una investigación se enviará en un medio de transporte de líquidos para estudio de anaerobios o en hemocultivo de anaerobios.

Las muestras para el estudio de virus se enviarán en hielo, si el envío se retrasa más de 24 horas, se deberá de conservar a -70°C.

E. OBSERVACIONES.

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

Es necesario que el médico señale claramente las investigaciones solicitadas (bacterias habituales, micobacterias, anaerobios, hongos o virus).

8. LÍQUIDOS ORGÁNICOS.

En este apartado trataremos de los líquidos orgánicos, habitualmente estériles, salvo LCR, como: Peritoneal, de diálisis peritoneal, pleural, articular y pericárdico.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Paños estériles.

- Gasas estériles.

- Guantes estériles.

- Jeringuillas y agujas estériles. No se deben utilizar jeringuillas heparinizadas, pues heparina lleva conservantes que pueden interferir la viabilidad de los microorganismos.

- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.

- Povidona yodada.

- Recipientes estériles con tapón de rosca.

- Recipientes estériles de boca ancha (ej. urocultivo).

- Sistemas de transporte de líquidos para estudio de anaerobios.

- Frascos de hemocultivos.

- Hisopos.

- Heparina.

B. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

Varía dependiendo del líquido corporal que se trate, pero siempre deberá seguirse una técnica rigurosamente estéril al 70%.

- 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, paracentesis, punción pericárdica o punción articular) de forma aséptica para evitar la contaminación por la flora cutánea o ambiental. La punción pericárdica se realiza con control electrocardiográfico.

- Una vez realizada la toma percutánea se retira la povidona yodada de la piel con un apósito impregnado en etanol al 70%.

- Más raramente se pueden realizar tomas de estas localizaciones en el transcurso de intervenciones quirúrgicas. En esta circunstancia debe desaconsejarse el uso de hisopos, siendo preferible también la aspiración; se utilizarán si el contenido no puede ser aspirado.

- La muestra del líquido de diálisis peritoneal ambulatoria crónica puede ser la propia bolsa que lo contiene.

C. VOLUMEN MÍNIMO.

Para el estudio bacteriano rutinario 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. Esta es la mínima cantidad necesaria para el estudio bacteriológico del líquido empleado en la diálisis peritoneal. En el caso de que el procesamiento se lleve a cabo por filtración se debe enviar al menos 1.000 ml.

D. TRANSPORTE.

Si es necesario evitar la coagulación de algunos de estos líquidos se usará heparina sin conservantes; otros anticoagulantes pueden tener acción bacteriana.

No usar la jeringuilla utilizada para la recogida. Si se emplea es imprescindible sustituir la aguja por una estéril tapada con su correspondiente protector.

Los recipientes idóneos son tubos estériles de tapón de rosca o de presión negativa sin conservantes. Se llenarán hasta cerca del tapón, de esta forma pueden ser útiles para el estudio de anaerobios, especialmente si la muestra es purulenta.

Viales o tubos prereducidos para el transporte de muestras para el estudio de anaerobios. Se emplearán especialmente en aquellos productos en los que habitualmente se encuentran estas bacterias, como es caso de los empiemas pleurales.

Hemocultivos, se inocularán 10 ml. Este es un sistema adicional a los anteriores. Está particularmente indicado cuando el envío se puede retrasar o en los líquidos que pueden coagularse. Si se sospecha anaerobios emplear uno adecuado para estas bacterias. Con su uso se ha incrementado el aislamiento bacteriano en peritonitis espontaneas o en las asociadas a diálisis peritoneal ambulatoria crónica. También se recomienda como transporte de líquidos articulares.

El líquido de diálisis peritoneal se transporta en frascos estériles de boca ancha o en la bolsa contenedora.

Debe desaconsejarse el uso de hisopos, y si se emplean se hará junto a sistemas de transporte para anaerobios.

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.

Los hemocultivos se mantendrán entre 35°C y 37°C, o en su defecto a temperatura ambiente.

E. OBSERVACIONES.

Cuando se utilice una anestesia local, hay que cambiar de jeringuilla y aguja para hacer la extracción de la muestra, ya que los anestésicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano.

9. TRACTO GENITAL.

9.1 MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO.

1. Exudados vaginales.
2. Exudados cervicales.
3. Exudados uretrales.
4. Exudados rectales.
5. Endometrios.
6. Culdocentesis.
7. Trompas y ovarios.
8. Vulva.
9. Lesiones cutáneomucosas para campo oscuro (chancros).
10. Ganglios linfáticos inguinales.
11. Líquido amniótico.
12. Productos de la concepción.

9.2 MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO.

1. Exudados uretrales.
2. Exudados rectales.
3. Ganglios linfáticos inguinales.
4. Lesiones de campo oscuro (chancros).
5. Muestras para el estudio de la prostatitis

9.3 MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE CLAMIDIAS Y MICOPLASMAS.

1. Muestras para la investigación de *Chlamydia trachomatis*.
2. Muestras para la investigación de *Mycoplasma sp.*

9.1 MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO.

1. EXUDADOS VAGINALES

A. MATERIAL NECESARIO.

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torundas de alginato cálcico o Dracon, con medio de transporte.

B. TÉCNICA.

Con la paciente en posición ginecológica se introducirá un espéculo "sin lubricante" (si es necesario para lubricar utilizar agua templada).

Recoger la muestra, bajo visión directa, con una torunda, de la zona con mayor

exudado, o en su defecto, del fondo del saco vaginal posterior. (Véase figura)

Repetir la operación con la segunda torunda.



B. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

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

C. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

El envío de la muestra debe ser inmediato siempre que sea posible. Cuando la muestra pueda procesarse antes de 15 minutos deberán emplearse torundas con medio de transporte tipo Stuart-Amies, que se mantendrán a temperatura ambiente, o preferentemente, en estufa 35-37°C hasta su procesamiento, que deberá ser antes de 3-6 horas.

D. OBSERVACIONES.

Aunque ocasionalmente puede aislarse *Neisseria gonorrhoeae* de muestras vaginales, esta no es la localización habitual de la infección, por lo que no debe descartarse esta posibilidad con un cultivo normal.

Cuando se sospeche la infección por *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* *Mycoplasma hominis* o *Ureaplasma urealyticum*, deberá enviarse muestra endocervical.

Para completar el diagnóstico de vaginosis si la toma no se realiza en el servicio de Micro biología, es imprescindible realizar en el momento de la misma, la determinación pH vaginal, la producción de aminas volátiles por la adición de KOH al 10% y observar características del flujo, todos estos datos consignarán en el volante.

No deben utilizarse en los días previos a la recogida de la muestra, soluciones antisépticas vaginales, óvulos ni pomadas.

2. ENDOCERVICALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torundas secas sin medio de transporte (para limpieza de exocérvix).
- Torundas de alginato cálcico o Dracon con medio de transporte tipo Stuart-Amies.
- Torundas con medios de transporte específicos para *Mycoplasma* y *Chlamydia*.

B. TÉCNICA.

Con la paciente en posición ginecológica introducirá suavemente el espéculo sin lubricar (o lubricado con agua templada).

Se limpiará el exocérvix de secreciones vaginales, con una torunda seca.

Bajo visión directa se comprimirá cuidadosamente el cérvix con palas del espéculo y se introducirá una torunda en el canal endocervical con un suave movimiento de rotación. (Véase figura)

Se repetirá la operación con la segunda torunda.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Deberán recogerse dos torundas, una destinada al examen microscópico y otra al cultivo.

Para investigación de *Mycoplasma* y *Chlamydia* se recogerá una tercera torunda con medio de transporte específico.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

No puede garantizarse la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* transcurridas 6-8 horas.

E. OBSERVACIONES.

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

3. EXUDADOS URETRALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TÉCNICA.

Limpiar cuidadosamente la mucosa circundante con gasas estériles.

Introducir la torunda suavemente con un movimiento de rotación hasta penetrar unos 2 cm dentro de la uretra (3-5 cm para la investigación de *Chlamydia trachomatis*).



(Véase figura) Repetir operación con una segunda torunda.

Cuando no haya suficiente exudado, puede estimularse mediante un masaje suave de la uretra contra la sínfisis del pubis, a través de la vagina.

NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Deberán enviarse dos torundas, una destinada al examen microscópico y otra al cultivo.

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

OBSERVACIONES.

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

4. EXUDADOS RECTALES.

MATERIAL NECESARIO.

-Guantes de goma.

-Torundas con un medio de transporte (Stuart-Amies).

TÉCNICA.

Introducir una torunda suavemente a través del esfínter anal.

Rotar contra las criptas rectales, dejar 10-30 segundos para que se absorban los microorganismos y extraer.

Se intentará evitar el contacto con materia fecal.

Cuando la torunda salga manchada de heces, deberá tomarse una nueva muestra

NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Basta con una torunda, dado que la visión microscópica no es representativa.

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

El envío de la muestra debe ser inmediato siempre que sea posible. Cuando la

muestra no pueda procesarse antes de 15 minutos, deberán emplearse torundas con medio de transporte Stuart-Amies, que se mantendrán en estufa a 35-37°C hasta su procesamiento.

OBSERVACIONES.

Cuando se sospeche proctitis por *Chlamydia trachomatis*, las muestras deberán tomarse mediante visión directa por anoscopia, buscando las lesiones ulcerosas o hipertróficas.

5. ENDOMETRIO.

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

Los métodos no invasivos como las torundas pasadas a través del cérvix se contaminan sistemáticamente, obteniéndose resultados similares en mujeres con endometritis y en mujeres sanas.

Se han descrito varios métodos intentando eliminar la contaminación cervical, como son la aspiración uterina a través de un catéter de doble luz o de torundas protegidas, o el método descrito por Martens et al. con el que se obtienen bajos índices de contaminación tomando las muestras con una torunda o aspirando un catéter, previa dilatación y descontaminación del cérvix con Povidona yodada.

En cualquiera de los casos, los resultados del cultivo de estas muestras deben interpretarse con cautela, teniendo siempre en cuenta la posibilidad de una contaminación cervical.

Es recomendable sacar hemocultivos, ya que se obtienen resultados positivos en un 30% de los casos de endometritis.

6. CULDOCENTESIS.

A. MATERIAL NECESARIO.

Se precisa el material quirúrgico que requiera la técnica, contenedores estériles y si se desea la investigación de anaerobios, un medio de transporte específico.

B. TÉCNICA.

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

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se intentará obtener 1-5 ml de muestra.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

La muestra se remitirá en un contenedor estéril o en la misma jeringa. Cuando se busquen anaerobios deberá inyectarse una parte de la muestra en un medio de transporte específico.

E. OBSERVACIONES.

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

7. TROMPAS Y OVARIOS.

A. MATERIAL NECESARIO.

- El material quirúrgico que requiera la técnica.
- Agujas y jeringas estériles.
- Contenedores estériles.
- Medios de transporte para anaerobios.
- Torundas de alginato cálcico o cepillos de broncoscopia.

B. TECNICA.

Deben obtenerse por laparotomía o laparoscopia.

La muestra se recogerá directamente a la luz de la trompa mediante una torunda o con un cepillo de broncoscopia.

Cuando la trompa esté obstruida se podrá recoger la muestra por punción-aspiración, introduciendo una parte en un medio de transporte para anaerobios y enviando el resto en un contenedor estéril o en la jeringa de la extracción.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se recogerá la máxima cantidad de muestra posible. En el caso de muestras líquidas se intentarán obtener de 1-5 ml.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

Debe ser inmediato. Cuando no sea posible deberán emplearse medios de transporte tipo Stuart-Amies o medios de transporte específicos para anaerobios, que se mantendrán a temperatura ambiente o, preferentemente, a 35-37°C.

8. VULVA.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Torundas.

-Alcohol etílico o isopropílico al 70%.

-Povidona iodada al 5%.

-Jeringas y agujas estériles.

B. TÉCNICA

Desinfectar la piel con alcohol y Povidona iodada, las superficies mucosas se limpiarán con agua estéril, nunca con alcohol ni Povidona.

Frotar con una torunda entre las lesiones y si hay abscesos aspirarlos con jeringa y aguja.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Deberá obtenerse la mayor cantidad de exudado posible. Cuando se trate de abscesos se intentará obtener al menos 1 ml.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Si la muestra no puede enviarse de inmediato se usarán medios de transporte, en el caso de torundas sirve el medio de Stuart-Amies y para punciones de abscesos una parte se introducirá en un medio de transporte para anaerobios.

9. LESIONES CUTANEOMUCOSAS PARA CAMPO OSCURO.

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TÉCNICA.

Una vez colocados los guantes, se limpiará la superficie de la lesión con gasas humedecidas en suero salino. Se evitarán en la limpieza jabones y otras sustancias ya que pueden tener actividad antitreponémica. Con una gasa seca se frotará suavemente la lesión hasta que se obtenga el fluido, intentando no producir demasiado sangrado, ya que pueden interferir en el examen microscópico.

Limpiar las primeras gotas de exudado que se obtienen y dejar salir el fluido profundo a la superficie. Recoger el fluido por capilaridad con una pipeta Pasteur o un capilar.

Colocar una gota de fluido en un porta limpio y examinar inmediatamente con campo oscuro. Si es necesario, añadir 1 gota de suero salino. También puede aplicarse el porta directamente sobre el fluido para recogerlo.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Antes de considerar un examen negativo hay que estudiar 3 muestras en días consecutivos.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Debe realizarse la toma en el mismo laboratorio y procederse de inmediato al examen microscópico.

10. GANGLIOS LINFATICOS INGUINALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TECNICA.

Desinfectar la piel con alcohol y posteriormente con Povidona, dejándola secar durante 1 minuto.

Realizar una punción-aspiración con jeringa y aguja o una escisión quirúrgica del ganglio. Enviar en la jeringa de la punción, o si se trata de una pieza quirúrgica, en un contenedor estéril "sin formol".

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

La máxima cantidad de muestra que se pueda obtener.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

La muestra ha de llegar al laboratorio dentro de la hora siguiente a la extracción. En el caso de punciones-aspiraciones debe realizarse de inmediato.

E. OBSERVACIONES. Es preferible obtener la muestra por punción-aspiración de la adenopatía a través de piel sana, que a partir de los puntos de drenaje.

Debe avisarse al laboratorio la sospecha de infección por *Haemophilus ducreyi* para que las muestras sean procesadas adecuadamente.

11. LIQUIDO AMNIOTICO.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona iodada al 10%.
- Aguja y jeringa.
- Contenedor esteril.
- Se requiere la monitorización del feto.

B. TECNICA.

Punción aspiración con jeringa y aguja tras desinfección de la piel dos veces consecutivas, la primera con alcohol y la segunda con Povidona.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se intentará obtener una muestra de 1-5 ml.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Deberá enviarse al laboratorio lo antes posible para su procesamiento.

E. OBSERVACIONES.

Debe informarse de la existencia de rotura de membranas de más de 24 horas.

12. PRODUCTOS DE LA CONCEPCIÓN.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Material quirúrgico.
- Contenedores estériles.

B. TÉCNICA.

Procedimientos quirúrgicos. Se enviarán tejidos o aspirados.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se enviará un bloque de tejido de las zonas sospechosas. En zonas en que se sospeche contaminación enviar un cubo de 6cm³, que incluya una superficie serosa o capsular intacta.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

No debe pasar más de una hora desde su recogida a su procesamiento por el laboratorio de Microbiología.

E. OBSERVACIONES.

Son muestras habitualmente muy contaminadas y difíciles de evaluar. Suelen ser muestras inadecuadas para cultivo salvo en casos concretos en que se sospeche infección por *Listeria monocytogenes* o *Streptococcus* betahemolítico del grupo B (*S. agalactiae*).

Es recomendable sacar hemocultivos, ya que son positivos en 2/3 de los casos de aborto séptico.

9.2 TRACTO GENITAL MASCULINO.

1. EXUDADOS URETRALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Torunda uretrales finas, de alginato cálcico o Dracon con medios de transporte tipo Stuart-Amies (Fig. nº6).
- Gasas estériles.
- Asa de siembra de platino.

B. TÉCNICA.

Cuando exista exudado franco puede recogerse con una torunda o con un asa de siembra e Platino-Iridio. El exudado puede estimularse exprimiendo la uretra.

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

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Deberán enviarse dos torundas, una destinada al examen microscópico y otra al cultivo.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

E. OBSERVACIONES.

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

2. LESIONES PARA CAMPO OSCURO Y GANGLIOS LINFÁTICOS INGUINALES.

Se seguirá la misma técnica que para el tracto genital femenino.

3. MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE PROSTATITIS (TÉCNICA DE MEARES-STAMEY).

A. MATERIAL NECESARIO.

Se preparará el mismo material que para un urocultivo y cuatro contenedores estériles que deberán ir identificados de la siguiente forma:

- "F-1" o "Frasco-1" (primera orina).
- "F-2" o "Frasco-2" (micción media premasaje).
- "F-3" o "Frasco-3" (masaje prostático).
- "F-4" o "Frasco-4" (orina post-masaje).
-

B. TÉCNICA.

Retraer el prepucio y limpiar el meato y el glande igual que para un urocultivo. Pedir al paciente que orine, recogiendo los primeros 10 ml. en el primer contenedor "F-1". Recoger los siguientes 10 ml. en el segundo contenedor "F-2". Esta porción corresponde a la "micción media".

Interrumpir la micción antes de que se haya vaciado totalmente la vejiga.

Hacer un masaje prostático y recoger el fluido en el tercer contenedor ("F-3" masaje prostático). Si no se produce fluido, presionar la uretra en su totalidad 30 segundos. Tras el masaje, acabará saliendo fluido prostático por el meato.

Finalmente se pedirá al paciente que orine y se recogerán los 10 ml. primeros de orina en un cuarto recipiente ("F-4" orina post-masaje).

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Frasco 1: 10 ml.

Frasco 2: 10 ml.

Frasco 3: Toda la muestra que se obtenga.

Frasco 4: 10 ml.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

E. OBSERVACIONES.

Se realizarán cultivos cuantitativos. Cuando el número de bacterias del frasco-1 es mayor al del frasco-2 y frasco-4, se considera que las bacterias son de origen uretral.

Cuando el número de bacterias de los frascos 3 y 4 es, por lo menos, 10 veces superior al de los frascos 1 y 2, se atribuye a colonización prostática.

Las muestras de semen no son adecuadas para cultivo, al estar sistemáticamente contaminadas, y los resultados obtenidos no son representativos de los microorganismos aislados en próstata.

9.3 MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE CHLAMYDIA Y MYCOPLASMA.

1. MUESTRAS PARA CHLAMYDIA.

Para investigación de *Mycoplasma* y *Chlamydia* deberán seguirse las directrices de cada laboratorio, ya que el equipo de recogida de muestras, medios de transporte y conservación dependen en parte de la técnica que emplea el diagnóstico (cultivo, inmunofluorescencia, etc.). No obstante, más adelante se describen los

procedimientos generales para la recogida de estas muestras, destinadas fundamentalmente al cultivo.

Las muestras adecuadas no son las secreciones, ya que *Chlamydia trachomatis* sólo afecta células escamo-columnares, como las células del epitelio de transición del cérvix. No son adecuadas muestras vaginales para estas determinaciones.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Espátulas.
- Torundas de alginato cálcico o Dracon con medios de transporte 2-SP.

B. TÉCNICA.

La muestra se recogerá mediante frotado o raspado enérgico de la zona afectada, siguiendo las instrucciones específicas descritas para cada localización.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

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

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

Las muestras que no puedan ser procesadas de inmediato deberán incluirse en un medio de transporte específico (medio sucrosa-fosfato "2-SP").

Cuando las muestras no puedan procesarse de inmediato se conservarán en nevera (4°C) hasta 24 horas. Para períodos más prolongados deberán congelarse a -70°C.

E. OBSERVACIONES.

Las torundas del alginato cálcico pueden variar en toxicidad frente a *Chlamydia trachomatis* dependiendo de los lotes

2. MUESTRAS PARA LA INVESTIGACIÓN DE MYCOPLASMAS UROGENITALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

Torundas con medio de transporte. Da igual que las torundas sean de algodón o de alginato cálcico siempre que se use un medio de transporte con proteínas.

B. TÉCNICA.

La descrita anteriormente para cada localización.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Es suficiente con una torunda destinada a este estudio.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Cuando no vaya a procesarse la muestra de inmediato deberá emplearse una torunda con 2 ml de medio de transporte (caldo tripticasa soja + 200-400 U/ml de Penicilina). Sirven también el medio de transporte de *Chlamydia* "2-SP" o el medio de Stuart-Amies.

Las muestras que vayan a procesarse antes de 24 horas podrán mantenerse en nevera (4°C). Para demoras superiores deberán congelarse a -70°C.

10. EXUDADOS OCULARES.

1. FROTIS CONJUNTIVALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TÉCNICA.

Debe obtenerse la muestra antes de la instalación de los analgésicos locales, colirios o antibióticos.

Con una torunda mojada en un suero fisiológico frotar sobre la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix.

Para la investigación de *Chlamydia trachomatis*, evertir el párpado y frotar con una torunda la superficie conjuntival.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Deberá utilizarse una torunda para cada ojo.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

El transporte deberá ser inmediato. Cuando no sea posible, se utilizarán hisopos con medio de transporte tipo Stuart-Amies, que se mantendrá a temperatura ambiente. Para *Chlamydia* se utilizará un medio de transporte específico ("2-SP").

E. OBSERVACIONES.

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

2. RASPADOS CONJUNTIVALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Espátula de platino flexible de Kimura.
- Anestésico local (clorhidrato de propacaína al 0,5%).
- Portas limpios con círculos marcados.

- Vaso de Koplín con metanol al 95%.

B. TÉCNICA.

Instilar uno o dos gotas de anestésico. Preferentemente se utilizará clorhidrato de propacaína, ya que es el anestésico local que inhibe menos el crecimiento bacteriano. Raspar suavemente con la espátula de Kimura la conjuntiva tarsal inferior, sin inducir sangrado. El material obtenido se colocará en el círculo de un porta limpio. Fijar el porta en Metanol durante 5-10 minutos.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Mínimo 1 portaobjetos con varias improntas corneales.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

Una vez fijados los portas no requieren medidas especiales para su transporte y conservación.

3. RASPADOS CORNEALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

Igual que para los raspados conjuntivales.

B. TÉCNICA.

Igual que para los raspados conjuntivales. Realizar el raspado de múltiples áreas de ulceración. Es importante que cada raspado se inocule directamente en el medio de cultivo, por lo que se avisará previamente al Servicio de Microbiología que desplazará al personal y/o material necesario para ello.

11. EXUDADOS OPTICOS.

1. OIDO EXTERNO.

A MATERIAL NECESARIO.

- Torundas de algodón o espátulas.
- Un antiséptico suave (ej. Cloruro de Benzalconio al 1/100.)

B. TÉCNICA.

Limpeza del oído externo con un antiséptico suave. Se tomará la muestra mediante frotis con torunda, raspado o aspiración del fluido en caso de abscesos.

Se obtendrá la muestra del borde activo y el exudado o las secreciones de las zonas profundas.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Una torunda para cada oído.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Si las muestras no pueden enviarse inmediatamente se emplearán medios de

transporte para bacterias tipo Stuart-Amies, que se mantendrán a temperatura ambiente.

E. OBSERVACIONES.

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

2 OIDO MEDIO.

A. MATERIAL NECESARIO.

- El de una miringocentesis (Timpanocentesis).
- Torundas estériles.
- Contenedor estéril.
- Medio de transporte para anaerobios.
- Povidona yodada al 10%.

B. TÉCNICA.

Timpanocentesis: Debe obtener la muestra un especialista en O.R.L. o personal entrenado para ello.

Se limpiará el canal auditivo externo con una torunda impregnada en Povidona yodada.

Se puncionará el tímpano a través de un otoscopio estéril. La muestra se enviará en un contenedor estéril. Cuando no sea suficiente se tomará con torunda.

Si se desea la investigación de anaerobios, se enviará el fluido en un medio de transporte específico. Las muestras en torunda no sirven para cultivo de anaerobios.

Muestras con tímpano roto: Tras la limpieza del canal externo se tomará la muestra con torunda a través de un otoscopio estéril. Estas muestras no son válidas para anaerobios, y además el fluido suele colonizarse con flora de CAE, con lo que la interpretación de los resultados es siempre complicada.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se intentará obtener la mayor cantidad de exudado posible.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

12. PIEL Y TEJIDOS BLANDOS.

1. ULCERAS Y HERIDAS SUPERFICIALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Suero fisiológico a solución de Ringer lactato.
- Jeringa y aguja estériles.

-Torundas con medio de transporte tipo Stuart-Amies.

B. TECNICA.

Lavar cuidadosamente la superficie de la herida.

Recoger el pus mediante jeringa y aguja, aspirando preferentemente de zonas profundas.

Cuando la muestra sea insuficiente, instilar suero o solución de Ringer lactato y aspirarlo nuevamente en la jeringa.

Cuando los procedimientos anteriores no sean factibles podrá efectuarse un frotis de las partes profundas de la herida con una torunda.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Para muestras líquidas se intentara obtener 1-10 cm³. En el resto de las ocasiones se enviará la máxima cantidad posible.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

El envío al laboratorio debe ser inmediato. Se utilizará para el envío la misma jeringa de la extracción 2, debidamente identificada si puede procesarse antes de 2 horas y si no usar medio de transporte.

E. OBSERVACIONES.

Las muestras recibidas en torunda son de escasa rentabilidad y deben obtenerse sólo en circunstancias muy excepcionales, cuando no se pueda recoger la muestra por otros métodos.

2. EXANTEMAS.

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TECNICA.

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

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se obtendrá el máximo volumen de muestra.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

Igual que para úlceras y abscesos.

3. ABSCESOS CERRADOS.

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TECNICA.

Desinfectar la piel. Limpiar la zona con alcohol, de fonna concentrica comenzando por el centro. Abarcar una zona de unos 10 cm.

Repetir la operación con Povidona. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, en lugar de Povidona se utilizará alcohol dos veces consecutivas.

Dejar secar al menos 1 minuto para que la Povidona ejerza su acción antiséptica.

Realizar una punción-aspiración del absceso con jeringa y aguja.

Introducir una pequeña parte de la muestra en el medio de transporte para anaerobios.

Desinfectar la superficie de goma del tapón con Povidona e inyectar con la misma jeringa, parte de la muestra. No deberán utilizarse nunca los medios que hayan adquirido una coloración azul.

Dejar el resto de la muestra en la jeringa y remitirla así, o bien, traspasarla a un contenedor estéril.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

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

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Las muestras deben enviarse al laboratorio tan pronto como sea posible. Hasta que esto suceda, mantener las muestras y el medio de transporte a temperatura ambiente.

E.OBSERVACIONES.

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

4. FISTULAS Y TRACTOS SINUSALES.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico a isopropílico al 70%.
- Povidona iodada al 10%.
- Jeringa y aguja.

B. TECNICA.

Limpiar cuidadosamente la superficie cutánea con alcohol y luego con Povidona. Aspirar el exudado de la parte profunda de la fistula con jeringa y aguja.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

El volumen óptimo para el cultivo es de 1-5 ml.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Enviar las muestras al laboratorio antes de 2 horas.

E. OBSERVACIONES.

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

13. MUESTRAS ODONTOLÓGICAS.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Algodón - Hisopos.
- Puntas de papel.
- Anestésico local.
- Cureta.
- Sistema para el transporte de anaerobios.

B. OBTENCION DE LA MUESTRA.

Placa subgingival y supragingival: Tras aislar la zona de donde se obtendrá la muestra con rollos de algodón. Se obtiene la muestra con curetas y se seca con algodón estéril.

Canal dental: Se desinfecta y se introducen en el canal 1 ó 2 puntas de papel hasta el fondo del canal.

Bolsa periodontal: Tras limpiar la placa supragingival se toma la muestra con cureta estéril introduciéndola lo más vertical posible hasta el fondo de la bolsa periodontal.

Abscesos: Tras desinfección, puncionar el contenido del mismo.

C. VOLUMEN DE LA MUESTRA.

El máximo que se pueda disponer.

D. TRANSPORTE.

Las muestras se remiten rápidamente, evitando el contacto con el oxígeno y la desecación. Es utilizado algún medio de transporte de los indicados en el apartado de anaerobios.

14. CATETERES Y DRENAJES.

1. CATETERES INTRAVASCULARES.

A. MATERIAL NECESARIO.

- 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 por 100 o un yodóforo al 10%.

B. OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

Desinfectar con alcohol una zona de piel de unos 10 cm correspondiente a la zona de entrada del catéter. Hacerlo en forma de círculos comenzando por el centro.

- Repetir la misma operación, pero con el alcohol iodado o el yodóforo, dejando que se seque durante un minuto.

Retirar el catéter con la máxima asepsia.

Ayudándonos de las pinzas y las tijeras estériles, cortar los 5 cm distales del catéter que corresponden a la porción intravascular. Introducir el segmento de catéter en un recipiente estéril correctamente identificado.

C. TAMAÑO DE LA MUESTRA.

3 cm. de la porción más distal.

D. TRANSPORTE.

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

2. OTROS CATETERES Y DRENAJES.

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

15. BIOPSIAS.

A. MATERIAL NECESARIO.

- El material quirúrgico estéril que precise la técnica empleada para la obtención de las biopsias de distintas localizaciones.
- Recipientes estériles con tapa de rosca.
- Suero salino estéril.
- Jeringas y agujas estériles.
- Sistemas de transporte para anaerobios (vales, placas con sistemas de generación de atmósfera anaeróbica, jarras de transporte, etc.).

B. TECNICA.

Muestras sólidas: Se obtendrá un bloque de tejido por escisión quirúrgica procurando incluir las zonas más afectadas, y cuando

las lesiones estén bien delimitadas se intentará incluir también el borde activo de la lesión.

Muestras líquidas: Se obtendrán por aspiración con jeringa y aguja siguiendo técnicas estrictamente asépticas

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Muestras sólidas: Se recomienda obtener una pieza de al menos 5-10 cm³. Muestras líquidas: 5-10 ml³.

Muestras líquidas: 5-10 ml.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Las muestras sólidas se introducirán en un recipiente estéril con tapa de rosca, al que pueden añadirse unas gotas de suero salino estéril para prevenir la desecación de las muestras de pequeño tamaño.

Cuando se disponga de ellos, las muestras se enviarán en bolsas, campanas o recipientes preparados para mantener un ambiente de anaerobiosis.

Las muestras líquidas se introducirán en un vial con medio de transporte específico para anaerobios, que se mantendrá a temperatura ambiente hasta su envío.

El envío y procesamiento de estas muestras debe ser inmediato.

E. OBSERVACIONES.

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

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

16. NECROPSIAS

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TECNICA.

Las muestras se recogerán preferentemente antes de que el cadáver se manipule demasiado o se abra.

La piel o las superficies serosas de los órganos deben desinfectarse antes de realizar punciones o extraer bloques de tejidos. Para esto pueden seguirse los procedimientos generales de desinfección, utilizando consecutivamente alcohol de 70° y Povidona iodada al 10%, o bien, cauterizar mediante una espátula al rojo.

Muestras sólidas: Se enviará una cuña de unos 6 cm³, que incluya una superficie serosa o capsular intacta.

Muestras líquidas: Se obtendrán por aspiración con jeringa y aguja siguiendo técnicas estrictamente asépticas.

Muestras de sangre: Se obtendrán por punción-aspiración de cavidades cardíacas derechas. La sangre así obtenida se inoculará en un frasco de hemocultivo anaerobio siguiendo los procedimientos generales descritos en el apartado de "hemocultivos".

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Muestras sólidas: Se recomienda obtener una pieza de al menos 5-10 cm³

Muestras líquidas: 5-10 ml.

Muestras de sangre: 5-10 ml.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Las muestras deberán transportarse en recipientes estériles con cierre hermético, que no contengan formol ni otras sustancias inhibitoras. Cuando el envío no pueda realizarse rápidamente las muestras pueden conservarse en nevera.

E. OBSERVACIONES.

Los cultivos de muestras de autopsias se contaminan con frecuencia con bacterias del agua o entericas, lo que debe tenerse en cuenta en la interpretación de los resultados.

Para la investigación de virus, hongos, micobacterias, etc, deberán seguirse los procedimientos específicos descritos en sus respectivos apartados.

17. MEDULA OSEA: ASPIRADOS.

A. INDICACIONES.

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

B. MATERIAL.

- Guantes estériles.
- Gasas estériles.
- Material para anestesia local.
- Material para punción ósea.
- Povidona iodada.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Tubos de presión negativa con heparina, sin conservantes.
- Tubos de hemocultivo (lisis-centrifugación).

C. TOMA DE MUESTRAS.

Localización. La punción se realiza fundamentalmente en el esternón (alternativas válidas: cresta ilíaca, apófisis vertebrales y en niños meseta tibial).

Descontaminar la piel según el método ya descrito.

Previa anestesia local, fundamentalmente en adultos, se realiza la aspiración estéril de la médula ósea.

El volumen obtenido no debe ser inferior a 1ml.

D. TRANSPORTE.

Mantener a temperatura ambiente para favorecer la coagulación.

Enviar rápidamente al laboratorio, puede conservarse varias horas a temperatura ambiente, siempre que la toma haya sido realizada de forma absolutamente estéril.

18. OTRAS INVESTIGACIONES EN SANGRE Y SUERO.

A. INDICACIONES.

- Serología.
- Detección de antígenos bacterianos (*H. influenzae*, serotipo B, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae*...) víricas (VIH, hepatitis B..) o fúngicas (*C.albicans*, *Aspergillus*, *spp*...).
- Niveles de antimicrobianos.
- Título bactericida o inhibitorio sérico.
- Amplificación genética (PCR).

B. MATERIAL.

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

C. TOMA DE MUESTRAS.

Procesamiento semejante al del hemocultivo. El tubo debe contener anticoagulantes o conservantes.

Recoger entre 8 y 10 ml de sangre, en niños de 3 a 4 ml. En Recién nacidos y lactantes se puede emplear, si no es posible la venipuntura, extracción capilar, en cuyo caso el volumen mínimo será de 0,5 ml.

D. TRANSPORTE.

Mantener a temperatura ambiente para favorecer la coagulación.

Enviar rápidamente al laboratorio, puede conservarse varias horas a temperatura ambiente, siempre que la toma haya sido realizada de forma absolutamente estéril.

19. INVESTIGACION DE MICROORGANISMOS ESPECIALES.

19.1 ANAEROBIOS.

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

A. TIPOS DE MUESTRAS.

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

B. MATERIAL NECESARIO.

- Material de cura esteril.
- Material quirúrgico estéril.
- Suero fisiológicos estéril.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada.
- Anestésico local.
- Camilla ginecológica.
- Espéculos estériles.
- Ultrasonidos o TAC.

**MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDJO DE BACTERIAS ANAEROBIAS
(I)**

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Sistema Nervioso Central	<ul style="list-style-type: none"> Aspirado de abscesos o empiema subdural. Biopsia quirúrgica. Hisopos obtenidos en una intervención y transportados en un medio para anaerobios. LCR (habitualmente no es necesario su procesamiento anaerobio). 	<ul style="list-style-type: none"> Hisopos transportados en un medio para
Cabeza y Cuello	<ul style="list-style-type: none"> Aspirado de abscesos o colecciones previa desinfección. Biopsia quirúrgica. Hisopos obtenidos en intervención quirúrgica y transportados en un medio para anaerobios. 	<ul style="list-style-type: none"> Hisopos faríngeos o nasofarín. Otros materiales superficiales tomados con hisopos (gingivales, bucales, óticos, etc.)
Pulmones	<ul style="list-style-type: none"> Aspiración transtraqueal. Aspirado pulmonar percutáneo. Líquido de toracotomía. Muestras tomadas con broncoscopio con cepillo protegido. Hisopos obtenidos en una intervención y transportados en un medio para anaerobios. 	<ul style="list-style-type: none"> Espujo. Espujo inducido. Aspirados endotraqueal. Exudados de traqueostomía (salvo los obtenidos en el momento de realizarlos.) Muestras broncoscópicas no protegidas. Lavado bronquial. Lavado broncoalveolar normal.
Aparato Circulatorio	<ul style="list-style-type: none"> Sangre Líquido pericárdico. Tejido de válvula cardíaca. Suero (toxina botulínica). 	

**MUESTRAS VALIDAS V NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS
(II)**

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Abdomen	<ul style="list-style-type: none"> Aspiración percutánea de líquido abdominal previa desinfección. Aspiración del contenido de abscesos, quirúrgica o percutánea (previa desinfección) con control TCA o ultrasonidos. Biopsia quirúrgica. Hisopos obtenidos en una intervención quirúrgica y transportados en un medio para anaerobios. Bilis obtenida quirúrgicamente. 	Hisopos para aerobios Tomas superficiales con hisopos.
Estómago e intestino delgado	<ul style="list-style-type: none"> Sólo para: <ol style="list-style-type: none"> Síndrome del asa ciega. Síndrome de mala absorción. 	

	c. Intoxicación botulínica.	
Intestino grueso	<ul style="list-style-type: none"> Heces sólo para cultivo o demostración de toxinas <i>C. difficile</i>, <i>C. botulinum</i>, o <i>C. perfringens</i> (toxina o recuento en intoxicación alimentaria). 	Heces. Efluentes de ileostomía. Efluentes de colostomía.
Vías urinarias	<ul style="list-style-type: none"> Orina aspirada por punción suprapúbica. Nefrostomía. 	Orina por micción. Orina por sondaje.

MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS (III)

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Aparato genital femenino	<ul style="list-style-type: none"> Líquido peritoneal obtenido por culdocentesis, laparoscopia. Aspirado endometrial obtenido por succión o por un colector protegido (sistema Pipelle o Accu Culshure) previa desinfección. Contenido de abscesos obtenido por aspiración. Biopsia quirúrgica. Hisopos obtenidos en una intervención quirúrgica y transportados en un medio para anaerobios. Dispositivos intrauterinos sólo para búsqueda de <i>Actinomyces spp.</i> y <i>Eubacterium nodatum</i>. Hisopos vaginales sólo para diagnóstico de vaginosis bacteriana (gram no cultivo) o para demostrar en medios selectivos la presencia de <i>Bacteroides</i> del grupo <i>fragilis</i> en endometritis. 	<ul style="list-style-type: none"> Hisopos vaginales. Hisopos cervicales.
Hueso	<ul style="list-style-type: none"> Aspiración profunda a través de la piel. Biopsia quirúrgica. 	<ul style="list-style-type: none"> Material superficial y obtenido con hisopos.
Articulación	<ul style="list-style-type: none"> Aspiración percutánea de líquido articular. 	
Alimentos	<ul style="list-style-type: none"> Cultivo y enumeración de <i>C. perfringens</i> en toxi-infecciones alimentarias. Cultivo y/o demostración de toxina de <i>C. botulinum</i>. 	

MUESTRAS VALIDAS Y NO VALIDAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS ANAEROBIAS (IV)

LOCALIZACION	MUESTRAS ADECUADAS	MUESTRAS INADECUADAS
Tejidos blandos	<ul style="list-style-type: none"> Aspiración percutánea de heridas abiertas, úlceras y abscesos. Biopsia quirúrgica. Aspirado profundo de fístulas y heridas profundas con geringuilla y catéter pequeño. Tejidos de úlceras o heridas obtenidas por raspado (con cureta). Hisopos de la base de úlceras descontaminadas y transportados en un medio para anaerobios (es el procedimiento menos deseable). 	<ul style="list-style-type: none"> Material superficial de la piel, mucosas, úlceras, escaras, heridas o fístulas.

Para la recogida de muestras:

- Jeringuillas, agujas, sondas pequeñas.
- Curetas.
- Broncoscopio.
- Cateter telescópico.

- Sistema de aspiración intrauterino (Sistema Pipelle o AccuCulShure).
- Hisopos de transporte preferentemente para anerobios.
- Sistema de transporte:

- Agujas con protector.
- Sistemas para transporte de líquidos en anaerobiosis.
- Sistema para transporte de hisopos en anaerobiosis.
- Recipientes para recogida de orina con tapón de rosca.
- Tubos estériles de tapón de rosca o de vacío.
- Placas de Petri.
- Sistemas de anaerobiosis en bolsas.
- Jarras de anaerobios.

C. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

Aspiración: Es el mejor método por su sencillez y facilidad; se emplea para obtener fluidos (abscesos cerrados, empiemas, líquidos orgánicos y cavidades cerradas como senos, oído medio, etc) y a veces tejidos. Habitualmente se realiza con jeringuilla y aguja. En ocasiones directamente con jeringuilla, bien porque el material a recoger es escaso o porque la zona donde se realiza está cerca de lugares críticos.

En la aspiración de fístulas o abscesos profundos abiertos se emplea un catéter conectado a la jeringuilla. Métodos especiales son aspiración por punción transtraqueal, o lavado broncoalveolar protegido mediante broncoscopio con catéter telescópico en muestras respiratorias o sistemas protegidos para la aspiración intrauterina.

La aspiración percutánea requiere una desinfección previa como la descrita en la toma de hemocultivos. En los abscesos pulmonares o intraabdominales, se dirigirá mediante ultrasonidos o TAC y la punción pericárdica se controlará por electrocardiografía.

Esta técnica también es adecuada para obtener muestras de celulitis, úlceras, escaras o abscesos abiertos y heridas superficiales. En estos casos se realiza a través de la piel íntegra de las proximidades, siendo en procesos no supurados, a veces es necesario inyectar uno o dos ml de suero fisiológico estéril y reaspirar.

La aspiración a través de mucosas (incluido cuello uterino) requiere limpieza previa y desinfección con povidona yodada un minuto.

En las fístulas y abscesos profundos abiertos se desinfecta la piel de alrededor, como se ha descrito, y la parte externa de la lesión con Povidona yodada, una vez retirada esta se aspira en profundidad con un catéter.

La aspiración de pus y otros fluidos (bilis, líquido peritoneal, etc.), se puede hacer en el curso de un acto quirúrgico, pero hay que evitar la contaminación por la flora de localizaciones próximas.

Las biopsias y muestras tisulares: Son también muy adecuadas para el aislamiento de bacterias anaerobias. Se tomarán muestras de tejidos que manifiesten signos de infección. A parte de las biopsias hay que incluir los raspados, el cepillado broncoalveolar tomado con broncoscopia y catéter telescópico y los sistemas protegidos para la aspiración intrauterina.

El raspado se emplea para recoger muestras de heridas o abscesos superficiales y úlceras. Se recomienda hacer una limpieza los días previos a la toma con apósitos, húmedos y secos. Al realizar esta se desinfecta con Povidona yodada diluida al 50% con suero fisiológico, que se elimina posteriormente con suero fisiológico estéril. El tejido se toma de la base.

Hisopos: Es el método menos deseable sólo se utilizará cuando no se pueda emplear uno de los anteriores. Se emplearán preferentemente hisopos comerciales libres de oxígeno. Se debe realizar con sumo cuidado, pues con este procedimiento la probabilidad de contaminación con los componentes de la flora normal es mayor. Además presenta los inconvenientes de permitir recoger escasa cantidad de muestra, que fácilmente se deseca por la deshidratación del algodón, las bacterias se adhieren a las fibras y no permite la realización de una tinción de Gram de calidad.

El uso de hisopos para hacer tomas de zonas habitualmente estériles en el transcurso de cirugía no plantea otros problemas que los derivados de sus limitaciones y el evitar la contaminación por la flora de zonas próximas.

En heridas, úlceras y abscesos superficiales se seguirán las normas dadas para el raspado.

Su empleo en fístulas y abscesos profundos abiertos debe desaconsejarse pero en caso de emplearse se seguirán las normas descritas para este tipo de tomas empleando la aspiración profunda.

Sangre: Se seguirán las normas generales dadas para realizar los hemocultivos. Se evitará que penetre aire en la inoculación de sangre. Sólo debe realizarse hemocultivo específico cuando se sospeche una bacteriemia por anaerobios. Probablemente debe realizarse rutinariamente en Servicios

donde la bacteriemia por anaerobios es frecuente (Cirugía abdominal y ginecológica especialmente). Algunos anaerobios crecen en los hemocultivos ventilados utilizados para detectar bacteriemias por anaerobios y facultativos.

D. VOLUMEN DE LA MUESTRA.

La mayor posible pues así se preserva la viabilidad de las bacterias.

Muestras líquidas: enviar un volumen de 1 a 10 ml. Cuando se empleen tubos de tapón de rosca procurar llenarlos al máximo.

Tejidos: Si es posible mayor de 1 cm³. Con los hisopos se recogerá la máxima cantidad de exudado posible.

E. TRANSPORTE.

Las muestras se remiten rápidamente, evitando el contacto con el oxígeno y la desecación. Así se impide la disminución de la viabilidad. Las distintas especies tienen diferente sensibilidad al oxígeno, aunque las más frecuentes y resistentes a los antimicrobianos (*Bacteroides del grupo fragilis*) muestran bastante resistencia. En general se mantienen mejor en los exudados purulentos que en los no purulentos porque en su composición entran numerosos elementos químicos reductores. Se conservan horas en muestras grandes tanto líquidas (> 2ml) como tisulares, porque en ellas se dificulta la difusión del oxígeno. Tanto para estas como especialmente para las más pequeñas se han diseñado sistemas que evitan el contacto con el oxígeno y la desecación:

1. Viales y tubos con atmósfera anaerobia y base de agar para mantener la humedad. En el agar se incluye un indicador de anaerobiosis. Los tubos son de tapón de rosca y se emplean para los hisopos que se introducen en la profundidad del agar, evitando la difusión del oxígeno. Una vez roto el palillo del hisopo el frasco se cierra rápidamente. Los líquidos se inoculan una vez desinfectado el tapón de goma de los viales, cuidando no introducir aire.

2. Tubos para el transporte de hisopos en las que una vez introducidos se genera una atmósfera anaerobia.

3. Tubos con atmósfera anaerobia y un medio de transporte prerreducido. Los líquidos se inoculan previa desinfección de la parte central del tapón que es de goma. Los tejidos e hisopos se introducen desenroscando el tapón y abriendo el frasco, en estas muestras es importante mantener vertical el frasco pues los gases empleados para conseguir la atmósfera son

más pesados que el aire, y así se impide la penetración de este manteniendo el estado de reducción.

4. Bolsas de plástico flexible para conseguir una atmósfera anaerobia. Se cierran con un sistema térmico o con un sistema de pinzas. Dentro se consigue una atmósfera anaerobia mediante un sistema catalítico, y se comprueba con un indicador que cambia de color con las modificaciones de potencial de óxido reducción. Es útil para el transporte de placas de Petri o en cualquier recipiente de tapón de rosca que se cierre una vez conseguida la anaerobiosis para evitar que se vierta el contenido.

Muestras líquidas: Aunque durante años se ha recomendado el uso de jeringuillas para su obtención eliminando el aire y clavando la aguja en un tapón de gasa, hoy se desaconseja el empleo de este sistema como método de transporte. El riesgo de pinchazos y el peligro de derramar el contenido han llevado a adoptar esta recomendación, en caso de tener que utilizarse se tapaná una vez ajustado con una aguja estéril tapada con un correspondiente protector. En la actualidad se aconseja eliminar el aire tapando la aguja con una goma estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles, cambiar la aguja por otra estéril e inocular el contenido en uno de los siguientes contenedores:

1. Si es abundante (>1 ml) y se quiere un método barato; en un tubo estéril de vacío o con un tapón de rosca, cuidando que el contenido inoculado llegue cerca del tapón y manteniendo la posición vertical para evitar la oxigenación.

2. Si se prefiere, el contenido es escaso, o el transporte va a dilatarse, se inocula previa desinfección en un vial para transporte de muestras líquidas para el estudio de anaerobios. La ausencia de cambio de color en el indicador presupone la correcta inoculación.

Tejidos:

1. Los tejidos (biopsias y raspados) se enviarán en tubos de tapón de rosca, viales para transporte de anaerobio de tejidos, y si son de gran tamaño, en placas de Petri o recipientes para recogida de orina. En cualquier caso los tejidos no deben ponerse en contacto con formol o cualquier sustancia.

2. Los tubos que no contengan una atmósfera anaerobia y las placas de Petri, especialmente si son muestras de pequeño tamaño, se colocarán en bolsas de plástico con una atmósfera anaerobia, los tapones

de rosca se cerraran una vez conseguida esta. Los recipientes para la orina se pueden transportar en jarras para anaerobios.

3. Los tejidos aspirados se transportan inoculándolos en tubos o viales para transporte de anaerobios.

4. Los cepillos protegidos tomados por broncoscopia se colocaran si se quiere buscar anaerobios en tubos con caldo prereducido que además sirve de diluyente.

Hisopos: Deben colocarse en uno de los sistemas comerciales para el transporte de muestra para el estudio de anaerobios, siguiendo el procedimiento previamente descrito.

Las muestras se mantendrán a temperatura ambiente hasta su procesamiento, la refrigeración disminuye el número de microorganismos viables porque incrementa la difusión del oxígeno. Solamente hemocultivos y LCR se mantendrán en estufa.

Las muestras se procesarán en las dos horas siguientes a su recogida. Si se dilata el tiempo o si las muestras son muy pequeñas se deberá usar un sistema de transporte adecuado. No obstante, muestras líquidas voluminosas, especialmente purulentas o grandes muestras tisulares, conservan la viabilidad de los anaerobios mas tiempo. En los sistemas de transporte específicos, las bacterias se conservan varios días.

19.2 MICOBACTERIAS.

1. NORMAS GENERALES.

Deben mantenerse las normas generales correspondientes a las tomas habituales y observar en cada caso las peculiaridades que se indican para cada una de las muestras obtenidas.

Los envases empleados serán estériles y de cierre hermético.

No se añadirá a la muestra ninguna sustancia conservadora ni antiséptica.

Se mantendrá protegida de la luz y el calor. La temperatura ideal para su conservación es de 4°C.

En todo momento se adoptarán las medidas necesarias para evitar que las muestras contaminen el ambiente o las personas.

2. MUESTRAS DE ORIGEN RESPIRATORIO.

2.1 ESPUTO.

A. MATERIAL NECESARIO

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

B. TECNICA DE OBTENCION DEL PRODUCTO.

Enjuagar la boca con agua destilada estéril o preferentemente salina.

Obtener el esputo tras una expectoración profunda, preferentemente matinal.

De no producirse expectoración espontánea, puede inducirse el esputo con nebulizaciones de suero fisiológico estéril (15 ml. durante 10 minutos), siendo muy útil además realizar un drenaje postular o fisioterapia respiratoria.

C. NUMERO DE MUESTRAS.

Tres muestras obtenidas en días consecutivos.

D. VOLUMEN MINIMO.

2-10 ml.

E. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Envío inmediato al laboratorio. Si no es posible, conservar en el frigorífico a 4°C.

F. OBSERVACIONES.

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

2.2 JUGO GASTRICO.

En niños pequeños o en pacientes que no expectoran y tragan sus esputos, puede realizarse una aspiración gástrica tras un periodo de ayuno de unas 8 horas.

Volumen mínimo 50 ml.

Debe remitirse y procesarse a la mayor brevedad posible.

Los lavados gástricos no son recomendables por ser con frecuencia negativos, contaminados, con micobacterias sin interés médico, molestos, y dolorosos para el enfermo.

2.3 PUNCION TRANSTRAQUEAL.

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

2.4 MUESTRAS RESPIRATORIAS OBTENIDAS POR FIBROBRONCOSCOPIA.

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

.Broncoaspirado.

.Cepillado bronquial por carácter telescopado.

.Lavado broncoalveolar.

.Biopsia transbronquial.

2.5 ESCOBILLAJE LARINGEO.

Indicado en enfermos en los que no es posible la expectoración espontánea ni inducida.

2.6 MUESTRAS OBTENIDAS POR ABORDAJE PERCUTANEO.

Obtención de perenquirna pulmonar por métodos señalados en el apartado de la toma de muestras del tracto respiratorio inferior.

2.7 LIQUIDOS Y BIOPSIAS PLEURALES.

Recogida estéril por toracocentesis o pleuroscopia.

Envío y procesamiento inmediato.

Las biopsias pueden enviarse en un tubo que contenga 0,25 ml. de agua destilada estéril.

3. ORINA

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TECNICA DE OBTENCION DEL PRODUCTO.

Recogida por micción estéril de la primera orina de la mañana y si es necesario de la 2ª y 3ª, hasta alcanzar al menos 100-150 ml. En cada micción se recoge toda la orina desechando en el WC sólo los primeros mililitros.

C. NUMERO DE MUESTRAS.

Tres muestras obtenidas en días consecutivos.

D. VOLUMEN MÍNIMO.

100 ml.

E. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Envío inmediato al laboratorio. Si no es posible, conservar en el frigorífico a 4°C.

F. OBSERVACIONES.

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

4. MUESTRAS GENITALES.

4.1 SANGRE MENSTRUAL.

Recoger con hematóforo o bien tomar de un tampón y diluir posteriormente, si es posible en los dos primeros días del ciclo.

4.2 BIOPSIA.

De endometrio.- Debe tomarse tanto de la cara anterior del útero como de la cara posterior, y no de una sola.

Cervical.

4.3 ESPERMA.

4.4 BIOPSIA DE NODULO O TUMORACIÓN.

5. OTRAS MUESTRAS PARA ESTUDIO DE MICOBACTERIAS.

5.1 MUESTRAS OSTEOARTICULARES.

- Líquido articular y sinovial.

- Secuestros óseos.

- Abscesos fríos.

5.2 HECES.

5.3 LIQUIDO ASCITICO.

5.4 MUESTRAS EN LINFADENITIS.

- Biopsia de ganglios.

- Abscesos fríos.

5.5 LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO.

5.6 MUESTRAS DE TEJIDOS BLANDOS.

- Abscesos.

- Lesiones cutáneas nodulares o ulceraciones.

5.7 PROCESOS GENERALIZADOS.

Extraer 5 ml de sangre en tubo al vacío y enviar al laboratorio lo antes posible.

Realizar de 3 a 5 extracciones en días consecutivos.

6. SUERO PARA DETERMINACION DE ANTICUERPOS.

Toma de sangre para obtener al menos 2 ml de suero.

7. FROTIS PARA EL DIAGNOSTICO DE M. LEPRAE.

Habitualmente deben realizarse frotis de la piel de las regiones afectadas frotis de la piel de fosas nasales, realizando un escobillaje profundo o lavado nasal.

Ocasionalmente puede realizarse toma de linfa de lóbulo de la oreja, punción ganglionar, punción esternal, etc.

19.3 HONGOS.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Recipiente estéril hermético.

- Placas de Petri estériles.
- Lanceta, bisturí, espátulas, pinzas de depilar, tijeras, cortaúñas, tijeras corvas y finas estériles.
- Torundas o escobillones estériles.
- Líquido de transporte. Suero fisiológico adicionado de penicilina (500 U/ml.) y de estreptomina (500 mcg/ml.) o cloranfenicol (500 mcg/ml.).
- Cinta celulósica transparente adhesiva.
- Portaobjetos limpios.
- Tubos estériles.
- Jeringas y agujas estériles.
- Solución salina estéril.
- Medio de Sabouraud-cloranfenicol en placas.

B. REQUISITOS.

Como medida general limpiar la piel con alcohol etílico o isopropílico al 70%.

Antes de hacer la toma es necesario asegurar que no haya sido aplicado ningún producto antifúngico por vía local o general, al menos en los cuatro días precedentes.

C. TECNICA DE LA OBTENCION DEL PRODUCTO.

Se ha de realizar según la zona afectada y el diagnóstico clínico:

1. ESCAMAS.

1. En el caso de las lesiones cutáneas secas, se raspan las escamas con la ayuda de una lanceta, o mejor de un bisturí, sobre todo en la periferia de la lesión, zona donde el hongo generalmente tiene mejor vitalidad ya que los hongos se desarrollan de modo centrífugo a partir del punto de inoculación. Si la lesión es pequeña se raspa en su totalidad. Las escamas se hacen caer en una placa de Petri.

2. En el caso de la pitiriasis versicolor, en la que el hongo está localizado en las células epidérmicas superficiales, se aplica sobre la lesión un fragmento de cinta adhesiva transparente, se tira enérgicamente, y se la adhiere sobre un portaobjetos.

3. En el caso de lesiones cutáneas rezumantes se hace la toma con un escobillón estéril, humedecido con solución salina fisiológica.

2. CABELLOS Y PELOS.

Se eligen los cabellos o pelos parasitados, si es preciso con la luz de Wood, ya que ciertos cabellos afectados son fluorescentes.

Los cabellos enfermos (rotos o contorneados) deben ser arrancados del folículo piloso.

Recoger el material en una placa de Petri estéril

3. FRAGMENTOS DE UÑA Y TEJIDO PERIUNGUEAL.

3.1 MICOSIS UNGUEALES.

Se elige la zona donde se ha de hacer la toma: la base de la uña, surco periungueal, en caso de onixis por *Candida* o la extremidad de la misma en el caso de onicomicosis por dermatofitos.

Hay que coger las escamas por debajo de las unas introduciendo un bisturí a lanceta en el lecho subungueal anterior, que suele estar despegado, raspando pacientemente hasta llegar a la zona dolorosa, donde extraeremos el material de mejor calidad. Posteriormente se cortan con una tijera fina y curva fragmentos de la uña afectada. El material obtenido se recoge en una placa de Petri.

3.2 PERIONIXIS.

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

4. EXUDADOS DE MUCOSAS.

La toma a nivel de mucosas se realiza por raspado con el borde romo del bisturí a escobillón estéril, y si el examen no se realiza precozmente, se agregan de 1 a 2 ml. de suero fisiológico adicionado del líquido de transporte reseñado, excepto cuando se sospeche de nocardiosis o actinomicosis.

Hacer frotis del exudado y al mismo tiempo si es posible, sembrar en Sabouraud-cloranfenicol con otro escobillón, sobre todo cuando han de enviarse las muestras a un laboratorio distante.

5. EXUDADOS DE ULCERAS.

En las úlceras de piel y mucosas, la toma se realiza raspando con bisturí los bordes y fondo de la misma, poniendo especial interés en los bordes, para obtener escamas dérmicas, así como las costras a porciones vegetantes si las hubiera, ayudándose con las pinzas.

En todas las lesiones ulcerosas o vegetantes es muy útil la biopsia que debe tratarse como se señala posteriormente.

6. MUESTRAS OFTALMOLOGICAS.

En caso de raspado corneal, obtener escamas a exudados debiendo la muestra ser sembrada directa e inmediatamente en Sabouraudcloranfenicol en placa de Petri.

7. PUS DE ABSCESOS.

Elegir los abscesos cerrados, pues en los abiertos la contaminación bacteriana masiva puede dificultar el diagnóstico.

La toma se realiza por punción en la zona fluctuante. Siendo recomendable utilizar jeringa con aguja gruesa, transportándolo en la misma jeringuilla al laboratorio.

8. PUS DE FISTULAS.

En caso de lesiones supurativas fistulizadas: Actinomicosis, Nocardiosis, Micetomas, Maduromicosis, etc., se procura recoger la mayor cantidad posible de exudado, por expresión de los trayectos fistulosos, dejando caer en tubo estéril.

Es muy importante la recogida de gránulos expulsados a través de la fístula, en cuyo caso pueden recogerse con apósitos y ser depositados en placa de Petri estéril.

9. ESPUTO, MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR.

Limpiar la cavidad bucal con una solución de lugol u otro desinfectante.

Enjuagar con solución salina.

Seguir la técnica igual a la empleada para el diagnóstico bacteriológico, siendo preferibles las muestras obtenidas por fibrobroncoscopia.

Es recomendable enviar al laboratorio lo antes posible o conservar en frigorífico a 4°C.

10. HECES.

Se recogen en recipiente estéril, y hermético.

En caso de emplearse escobillón, se añade el líquido de transporte indicado.

11. SANGRE

11.1 SERODIAGNOSTICO.

Para el serodiagnóstico, se extraen 10-20 ml. de sangre en un tubo estéril, y se recoge el suero, añadiendo 1 a 2 gotas de una solución merthiolato sódico al 1%, o de nitrato de sodio al 5%, por cada ml. de suero, para prevenir la contaminación bacteriana en caso de ser transportada a un laboratorio distante.

11.2 HEMOCULTIVOS.

Igual que la empleada para el diagnóstico bacteriológico. Pueden emplearse hemocultivos específicos y sistemas de lisis centrifugación, que mejoran el rendimiento.

12. OTROS LIQUIDOS BIOLÓGICOS.

Líquido cefalorraquídeo, médula ósea, líquido pleural, orina, etc.

Se realiza con igual técnica que la empleada para el diagnóstico bacteriológico.

13. BIOPSIA DE TEJIDOS U ORGANOS.

La biopsia es uno de los procedimientos más seguros para el diagnóstico de una micosis interna.

La pieza de biopsia se divide en 2 fragmentos: uno se coloca en suero fisiológico o formol al 10% y se envía para estudio anatomopatológico y el otro, destinado a ser cultivado en Microbiología, se introduce en tubo estéril con suero fisiológico o agua glicerinada al 25%, agregando líquido de transporte excepto si se sospecha una nocardiosis o actinomicosis.

D.OBSERVACIONES

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

19.4 PARASITOS.

A. MATERIAL NECESARIO:

- Recipiente (orinal o similar) lo más amplio posible.
- Recipiente estéril de boca ancha, a ser posible con cucharilla.

B. OBTENCION DEL PRODUCTO.

En los tres días previos al estudio parasitológico, el enfermo seguirá una dieta en la que:

* No podrá tomar: medicamentos, papilla de bario, patatas, verduras, legumbres y frutas.

* No podrá tomar: pan tostado (no integral), pastas, arroz, huevos, hígado y sesos.

En algunos casos es preferible y necesario administrar un purgante, con el fin de aumentar la posibilidad del hallazgo de parásitos. Será un purgante salino, como sulfato de sodio o fosfato y carbonato de sodio; no deben usarse aceites minerales o compuestos de bismuto o magnesio, ya que las gotas o cristales procedentes de ellos pueden enmascarar los parásitos o confundirse con trofozoitos.

Con una cucharilla se recogerá una pequeña cantidad de heces recién emitidas y se enviarán en un recipiente estéril con tapa de rosca.

Cuando macroscópicamente se hayan visto formas compatibles con parásitos en el año o en las heces, se recogerán en el recipiente y se añadirá una pequeña cantidad de suero fisiológico.

C. VOLUMEN DE LA MUESTRA.

Es suficiente un volumen de heces similar a una cucharada de café (2-4 g).

Un estudio parasitológico completo debe constar de tres muestras recogidas en días sucesivos, ya que la expulsión de parásitos puede ser intermitente.

D. TRANSPORTE.

Si las muestras tardaran mucho en ser examinadas, deberán ser mantenidas a temperatura ambiente o ligeramente frescas y nunca en estufa o nevera, a cuya temperatura se destruyen muchos parásitos. Pero si el retraso va a ser grande, para preservar huevos, larvas o quistes, se deben mezclar las heces con algunos de estos productos que evitan su destrucción:

1. Formol al 5-10%; se mezcla un volumen de la muestra con tres del formol así diluido.

2. Fijador PVA (alcohol de polivinilo); también se mezclan tres volúmenes de PVA por volumen de la muestra fecal.

3. Solución MIF (solución de mertiolato-yodo-formol), que preserva tanto trofozoitos como quistes, y es el método más recomendado.

4. Fijador PAF (fenol-alcohol-formol). En el caso de gusanos adultos a anillos de tenias, el envío debe hacerse previa separación de las heces en solución fisiológica.

Dentro de las parasitosis destacamos, por sus características especiales la investigación de oxiuros y amebas.

E. INVESTIGACION DE OXIUROS, TEST DE GRAHAM.

En la parasitación por *Enterobius* no se buscarán los huevos en las heces sino en los márgenes del ano, que es donde la hembra va a depositarlos. Para ello se puede utilizar:

1. Un pedazo de celofán (22 x 22 mm), montado en la extremidad de una varilla de cristal y mantenido en posición por una goma elástica. Se frota los márgenes del ano con el celofán, y en el laboratorio este se extiende sobre un portaobjetos, con ayuda de una gota de suero salino o sosa decimonormal, para examinarlo al microscopio.

2. Un trozo de cinta adhesiva de celulosa sobre la región anal al acostarse; se deja durante toda la noche y se quita por la mañana.

El método más útil es la técnica de Graham, que consiste en el empleo de un depresor de lengua (madera, plástico, etc.), de 7-8 cm de longitud por 1,5 cm de anchura, en uno de cuyos extremos se coloca la cinta de papel adhesivo transparente con la cara engomada hacia fuera, a sea, contraria al depresor (fig 1 y 2). Por la mañana, antes de levantarse el explorado, se separan las nalgas y se hace presión hacia ambos márgenes (fig 3 y 4), para que en la cara engomada queden adheridos los huevos. La cinta adhesiva se coloca sobre un portaobjetos con la cara engomada hacia el cristal, y se envía al laboratorio en un sobre o envuelto en varias capas de papel.



F. INVESTIGACION DE AMEBAS INTESTINALES.

La observación de las heces requerirá que éstas sean siempre muy recientes, por lo que el transporte debe ser inmediato.

En caso de abscesos de posible etiología amebiana, se aspiraran con jeringa y aguja, siguiendo la mayor asepsia. Se recomiendan dos muestras, correspondiendo la última a la pared del absceso. Enviar inmediatamente al laboratorio.

Para investigación serológica, enviar 5 ml de sangre en un tubo, sin anticoagulante. Si fuera necesario, sepárese el suero y conservarlo congelado a -20°.

19.4.2 PARASITOS EXTRAINTESTINALES.

1. PARASITOS UROGENITALES.

1.1 TRICHOMONIASIS.

Son muestras adecuadas para su estudio: orina, exudado uretral y exudado vaginal.

Se recomienda no hacer lavados vaginales ni tener relaciones sexuales en las 48 horas previas a la recogida de la muestra.

Exudado vaginal: Se introducirá un espéculo sin lubricante y con una torunda estéril se recogerá el exudado de la zona donde sea más abundante.

Debe enviarse al laboratorio antes de 15 minutos.

Exudado uretral: Introducir una torunda estéril unos 2 cm en la uretra, girarla y extraerla. La muestra se enviará al laboratorio antes de 15 minutos. La muestra se recogerá preferentemente antes de la primera micción de la mañana.

Orina: Se recogerá la primera orina de la mañana. Se seguirá la misma técnica que para el urocultivo, pero en este caso se recogerán en el recipiente estéril los 10 primeros milímetros de orina, desechando el resto. La muestra debe enviarse al laboratorio inmediatamente. No debe refrigerarse.

1.2 OXIURIOSIS VAGINAL.

Suele ser una complicación de la parasitación intestinal, por lo que deben investigarse los huevos en vulva y ano conjuntamente.

Investigación de oxiuros en vulva: Con un papel cello montado sobre una espátula de madera (ver test de Graham en las parasitosis intestinales), se pegará varias veces sobre los labios menores y el introito vulvar. Adherir el papel cello en un portaobjetos de vidrio.

Investigación de oxiuros en ano: Debe acompañar a la técnica anterior cuando se sospeche una oxiurosis vaginal.

Los portaobjetos no requieren medidas especiales de conservación hasta su llegada al laboratorio.

2. PARASITOS VESICALES.

2.1 ESQUISTOSOMIASIS.

Son muestras adecuadas: orina, biopsia de la mucosa vesical.

Biopsia de la mucosa vesical: La realizará un especialista bajo cistoscopia. El material obtenido se enviará inmediatamente al laboratorio dentro de un recipiente estéril con una pequeña cantidad de suero salino.

Orina: Enviar la orina de 24 horas sin conservantes. También puede servir una muestra de orina aislada si se recoge la porción final de la micción después de un esfuerzo moderado (subir escaleras, etc), o tras masaje prostático. La muestra deberá enviarse al laboratorio lo antes posible en un recipiente estéril.

2.2 FILARIASIS. (*Wuchereria bancrofti*).

Recoger 10-20 ml. de orina en un recipiente estéril y enviarlo rápidamente al laboratorio para su procesamiento.

3. PARASITOS EN SANGRE Y TEJIDOS.

3.1 PALUDISMO.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Portaobjetos limpios conservados en alcohol en una mezcla de alcohol-éter.

- Lancetas estériles desechables.

- Gasas estériles.

- Alcohol al 70%.

- Tubo para suero de 5 ml. sin anticoagulante.

B. OBTENCION DEL PRODUCTO.

Se obtendrá una muestra de sangre por punción digital o por punción venosa.

Punción digital: Desinfectar la superficie del dedo con una gasa humedecida en alcohol. Pinchar con una lanceta estéril. La primera gota de sangre se limpiará con un algodón y las gotas subsiguientes se recogerán sobre varios portaobjetos para hacer las extensiones.

Punción venosa: Extraer 5 ml. de sangre en un tubo estéril sin anticoagulante. De esta manera se pondrán algunas gotas en portaobjetos para realizar las extensiones. El resto se guardará para serología.

Extensiones finas: La técnica es similar a la utilizada en hematología. Se colocará una gota de sangre en un porta, y con la ayuda del borde de otro portaobjetos se extenderá hasta formar una película fina en la que puedan verse microscópicamente hematíes aislados. La extensión debe tener un mínimo de 2 cm.

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

C. VOLUMEN DE LA MUESTRA.

En el **período febril** enviar tres extensiones finas y una gota gruesa.

En el **período sin fiebre** enviar una extensión de gota gruesa y 5 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante para serología parasitaria (sólo válido para estudios de prevalencia o para diagnóstico de paludismo antiguo o crónico).

Momento de la extracción: En el período febril cualquier momento es bueno. Deben empezar a obtenerse las muestras tan pronto como se sospeche esta enfermedad para no demorar el diagnóstico.

3.2 FILARIASIS EN SANGRE.

Investigación de microfilarias de *Wuchereria bancrofti*, *Burgia nialayi*, *Dipetaloneina pertans* y *Mansonella ozzardi*. Son muestras adecuadas para su estudio:

Punción digital: Deberá realizarse en el laboratorio, ya que requiere su estudio inmediato. Se recogerán 2-3 gotas sobre un

portaobjetos para su examen en fresco. Las primeras gotas son las más ricas en el caso de las microfilarias linfáticas.

Punción venosa: Recoger 5 ml. de sangre en un tubo sin anticoagulante, y otros 5 ml. en un tubo con anticoagulante (preferentemente EDTA o citrato). Las muestras deben enviarse inmediatamente al laboratorio. En caso de demora, la muestra con anticoagulante puede conservarse en nevera.

Serología: Obtener por punción venosa 5 ml. de sangre sin anticoagulante y separar el suero.

Algunas microfilarias tienen una periodicidad nocturna, por lo que se recomienda realizar dos extracciones, una a medio día y otra a media noche.

3.3 FILARIAS EN TEJIDOS.

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

Biopsia sub-epidérmica: La muestra ideal es una biopsia sin sangre de la zona que queda inmediatamente por debajo de la epidermis hasta las papilas dérmicas. La forma de obtener la muestra es haciendo 4-5 escarificaciones poco profundas con una hoja de afeitar o de bisturí. Debe enviarse al laboratorio inmediatamente en una pequeña cantidad de suero salino (0,2 ml). Otra forma sencilla de recoger la muestra es la siguiente: con una aguja fina se introducirá muy superficialmente y se levantará un poco la piel. Con ayuda de una hoja de afeitar o de bisturí se cortará justo por debajo de la aguja, obteniéndose pequeños fragmentos de piel, que deben enviarse inmediatamente en suero salino. Las zonas preferibles son: región glútea, escápula y pantorrilla.

Biopsia dermo-epidérmica: Con un bisturí, cortar un pliegue cutáneo o un cono de piel. Enviar la muestra rápidamente al laboratorio en un tubo con una pequeña cantidad de suero salino.

Biopsia ganglionar: Obtención quirúrgica siguiendo una técnica aséptica. La muestra debe enviarse lo antes posible al laboratorio en un recipiente estéril.

Inmunología parasitaria:

1. Intradermorreacción con antígeno de *Dirofilaria immitis* sólo disponible en laboratorios especializados.

2. Serología parasitaria: obtener 5 ml. de sangre por venopunción y esperar el suero.

3. Test de Mazzoti: regudización de la sintomatología tras la administración de 1/8-1/4 de comprimidos de Dieticarbamacina.

3.4. TRIPANOSOMIASIS.

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

Sangre periférica: Obtener sangre sin anticoagulantes por punción digital o venosa preparando las siguientes extensiones:

1.1 extensión para visión directa: poner una gota sobre portaobjetos y tapar con un cubre. Envío inmediato al laboratorio para su observación.

2.2 extensiones finas (igual técnica que para el paludismo).

3.1 extensiones finas (igual técnica que para el paludismo).

4. Obtener 5 ml. de sangre en un tubo sin anticoagulante para técnica de concentración centrifugado.

5. Obtener 5 ml. de sangre con anticoagulante para leuco-concentración (técnica de Hothi-Sang).

Nota: las muestras de sangre son útiles en la fase aguda tanto en las tripanosomiasis americana como africana.

6. Cuando no se disponga de medios de cultivo adecuados (NNN, Steiner, ect), enviar 5 ml. de sangre para cultivo.

Biopsia o aspirado ganglionar: Obtención de la muestra por punción aspiración de la piel previamente desinfectada, o por biopsia ganglionar. La muestra debe enviarse inmediatamente al laboratorio en un recipiente estéril. Las muestras más adecuadas son los ganglios cervicales que se encuentran hipertrofiados o excesivamente reducidos.

Médula ósea: Obtener un aspiratorio y enviarlo inmediatamente al laboratorio en la misma jeringa o en un tubo estéril (útil en la fase aguda).

LCR: Recoger asépticamente la máxima cantidad posible de líquido y enviarlo rápidamente al laboratorio. Esta muestra es útil en fases tardías de la Tripanosomiasis africana (*T. gambiense* y *rhodesiense*).

Chancro de inoculación: Útil en fases tempranas de *T. cruzi*. La muestra se obtendrá por escarificación del chancro (muestra subepidérmica igual que para microfilarias). Envío inmediato al laboratorio en un tubo con una pequeña cantidad (0,2 ml.) de suero fisiológico.

Serología: Puede realizarse en muestras de suero y LCR (sólo se dispone de estas técnicas en un laboratorio especializado en Medicina Tropical).

3.5 LEISHMANIASIS.

Leishmaniasis cutánea: Introducir suero salino estéril con jeringa y aguja por debajo del lecho de la úlcera inyectando y absorbiendo varias veces para desbridar el tejido. Recoger el material obtenido en la jeringa y enviarlo al laboratorio lo antes posible. Cuando se disponga de brocas dentales estériles es preferible utilizar la técnica de Griffitt y Dutz, introduciendo la broca por debajo de la lesión y emulsionando el material obtenido al retirarla en una pequeña cantidad de suero salino.

Leishmaniasis mucocutánea: Realizar biopsia de piel asépticamente y enviarla inmediatamente al laboratorio para su procesamiento (examen microscópico y cultivo).

Leishmaniasis visceral (Kala-azar): Son muestras adecuadas para examen microscopio y/o cultivo:

-Biopsia esplénica: la más rentable y peligrosa.

-Biopsia de la médula ósea.

-Biopsia hepática.

-Biopsia ganglionar.

Estas muestras se enviarán inmediatamente al laboratorio en un recipiente estéril.

Diagnóstico serológico de las leishmaniasis: Enviar 5-10 ml. de sangre en un tubo estéril sin anticoagulante. La muestra deberá enviarse rápidamente al laboratorio. Cuando no sea posible, se separa el suero en un tubo y se congelará a -20°C (congelador de nevera) hasta su procesamiento.

La serología es útil en la leishmaniasis mucocutánea y visceral.

Intradermorreacciones (prueba de montenegro): Inyección intradérmica de 0,1 ml. de antígeno (promastigotes de *Leishmania* muertos por calor) y lectura de los resultados a las 48 horas. No es de utilidad en Kala-azar activo.

3.6 TOXOPLASMOSIS.

1. Serología parasitaria: Obtener por punción venosa 5 ml. de sangre y enviar al laboratorio rápidamente en un tubo sin anticoagulante. Cuando haya demora en el envío se debe separar el suero que se mantendrá congelado a -20°C hasta su procesamiento.

2. Biopsia ganglionar: Examen anatomopatológico de la muestra.

3. Tejidos de autopsia: Limitar el estudio a cerebro, retina, músculo y miocardio.

3.7 TRIQUINOSIS.

1. Serología parasitaria: Enviar 5 ml. de sangre en un tubo sin anticoagulante. En caso de demora, separar el suero y congelarlo.

2. Biopsia muscular: Preferentemente de músculo deltoides. Enviar rápidamente para su estudio histológico.

4. PARASITOS PULMONARES

4.1 PNEUMOCYSTIS CARINIL

Son muestras adecuadas: Biopsias pulmonares, aspirados transtorácicos, cepillados bronquiales, lavados brocoalveolares o lavados bronquiales. El esputo expectorado, excepto en el caso de pacientes con SIDA, no suele contener suficiente número de organismos para su detección, lo que hace muestra inadecuada que no se procesa en la mayoría de los laboratorios.

En niños muy pequeños pueden recogerse las secreciones respiratorias mediante aspiración laringofaríngea por sonda nasal.

Las secreciones, lavados, cepillados y/o biopsias, se enviarán inmediatamente en un recipiente estéril.

4.2 QUISTE HIDATIDICO.

1. Serología parasitaria: Enviar 5 ml. de sangre en un tubo estéril sin anticoagulante. En caso de demora, separar el suero y conservando congelado a -20°C.

2. Aspiración del quiste: Sólo debe hacerse in vitro, sobre quistes extraídos mediante cirugía. Recoger el barro hidatídico (arenilla). Debe enviarse rápidamente para su examen microscópico.

4.3 DUELTAS RESPIRATORIAS Y LARVAS DE NEMATODOS.

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

1. Serología parasitaria: 5 ml. de sangre del modo habitual.

2. Esputo: El primer esputo de la mañana obtenido por expectoración.

19.5 VIRUS.

Las muestras recomendadas para el aislamiento de los distintos virus son:

Adenovirus: hispo faríngeo, hisopo conjuntival, orina, muestras de necropsia.

Herpes simple: líquido vesicular, hisopo faríngeo, LCR.

Varicela-zoster: líquido vesicular, LCR.

Citomegalovirus: orina, sangre, hisopo buscal, biopsias de necropsia.

Enterovirus: Heces, LCR.

.Polio.

.Coxsackie A y B (algunos tipos).
Rubeola: hisopo faríngeo y nasal, LCR orina.
Influenza: hisopo faríngeo.
V. respiratorio sincital: hisopo faríngeo.
Sarampión: sangre, hisopo faríngeo, orina.
Parainfluenza: hisopo faríngeo.
Parotidis: hisopo bucal, LCR, orina.
Sólo puede insertarse el aislamiento de virus en la fase aguda de la enfermedad.
Pasada ésta se recomienda el diagnóstico serológico.

A. MATERIAL NECESARIO Y OBTENCION DEL PRODUCTO.

El material necesario y la forma de recogida de la muestra es similar a la de los productos destinados a cultivo bacteriano.

B. TRANSPORTE.

Los medios más idóneos son:

-Medio de Eagle con 2% de suero fetal de ternera.

-Medio comercial "Vir Tran".

Con pocas excepciones (V. respiratorio sincital,) las muestras deben mantenerse refrigeradas durante su transporte.

Cuando sean pocas horas, sirve un "termo" o una bandeja con hielo. Para más horas, si es posible, se usará nieve carbónica, tras asegurarse de que la muestra está en un recipiente hermético, a ser posible doble.

Dada la fragilidad de muchas especies víricas fuera de la célula, cuando no sea posible inocular el producto al lado del paciente deberán seguirse las siguientes instrucciones en su conservación y transporte: **Muestras de faringe, nasales y tracto respiratorio**, enviar la muestra en torunda con medio de transporte.

Vesículas: recoger en capilares de cristal o si se puede con jeringa y aguja fina. Los capilares se ponen en contenedores cerrados y el contenido de las jeringas en un frasco con medio de transporte. Las torundas son menos útiles y si se usan deben enviarse con medio de transporte.

Costras de varicela: coger la costra con pinzas y transportar en seco en frascos con cierre hermético.

LCR: enviar en un recipiente estéril con tapa de rosca.

Heces: enviar en medio de transporte o en una mezcla de glicerol y solución salina a partes iguales.

Torundas rectales: enviar en medio de transporte o en glicerol-salino.

Sangre: obtenida por venopunción o punción digital, puede enviarse completa o mandarse el suero una vez separado.

Biopsias y muestras de autopsia: transportar en recipientes con medio de transporte Nunca en formol.

BIBLIOGRAFIA

1. Amies C.R. 1967 A modified formula for the preparation of Stuart's transport medium. Can J Public health 58:296.

2. Balows A., Hlausler Jr., W.3., Renmann K.L., Isenberg H.D., Shadomy H.J. (eds). 1991. Manual of clinical microbiology 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

3. Bannatyne R.M., Claussen C., McCarhty L.R. 1979 Cumitech 10, Laboratory diagnosis of Upper Respiratory Tract Infections. Coordinating Ed.: Duncan I.B.R. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

4. Baron E.J., Tenover F.C., Tenover J.C., Tenover K.C., Tenover J.C., Tenover J.C. (eds). 1990. Diagnostic microbiology 8th ed. The Mosby Co. St. Louis.

5. Casal Roman M. 1990. Microbiología clínica de las enfermedades por micobacterias. Christian D.L., Ederer G.M. 1975 Evaluation of bacteriological transport media. Am J Med Tech 41:299-306.

6. Clarridge J.E., Pezzlo M.T. and Vosti K.L. 1987. Cumitech 2A, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Coordinating Ed.: A. S. Weissfeld American Society for Microbiology, Washington, D.C.

7. Clyde W.A., Kenny G.E., Schachter 3. 1984. Cumitech 17, Laboratory Diagnosis of Female Genital Tract Infections. Coordinating Ed.: Robin 5.3. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

8. Collignon P.S. and Munro R. 1989. Laboratory diagnosis of intravascular catheter associated sepsis, Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 8:807-814.

9. Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Hospital Clínico "S. Cecilin". 1984. Manual de recogida y envío de muestras. Granada.

10. Drouhet E., Segretain G. et Mariat F. 1977. Techniques en Parasitologie et en Mycologie. Flammarion Medicine-Sciences. Paris. Editorial Sims. Barcelona.

11. Engelkirk P.G. Engelkirk J.D. Dowell Jr. V.R. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co. Belmont.
12. Farber P., Seltzer S. 1988. Endodontk Microbiology I. Etiology. Journal of Endodontics 14: 363-371.
13. Grupo de microbiología interhospitalaria de Madrid (M.I.M.). 1987. Manual de recogida de muestras, Materiales y Reactivos S.A. Madrid.
14. Haley L.D., Callaway C. 1978. Laboratory Methods in Medical Mycology. U.S. Department of Health, Education and Welfare. Public Health Service. Center for disease Control. Fourth Edition.
15. Holmes K.K., Mardh P-A., Sparling P.F., Wiesner P.S. 1984 Sexually transmitted diseases. McGraw-Hill. New York.
16. Isenberg H.D. (eds). 1992. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
17. Isenberg M.D., Schoenknecht F.D., von Graevenitz A. 1979. Cumitech 9, Collection and Processin of Bacteriological Specimens. Coordinating Ed.: Robin 5.3. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
18. Jones D.B., Liesegang T.J., Robinson N.M. 1981. Cumitech 13, Laboratory Diagnosis of Ocular Infections. Coordinating Ed.: Washington J.A. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
19. Kellogg D.S., Holmes K.K., Hill G.A. 1976. Cumitech 4, Laboratory Diagnosis of Gonorrhea. Coordinating Ed.: Marcus S., Sherris J.J. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
Larone D.H. 1993. Medically important fungi. A guide to identification. American Society for Microbiology.
20. Lauer B.A., Masters B. 1988. Toxic effect of calcium alginate swabs on *Neisseria gonorrhoeae*. J Clin Microbiol 26:54-56.
21. Mardh P-A., et al. 1981. Sampling, specimen handling, and isolation techniques in the diagnosis of genital eblamydial and other genital infections. Sex Transm Dis 8:280.
22. Martens M.G., Faro S., Hammill H.,A., Riddle G.D., Smith D.1989. Transcervical uterine cultures with a new endometrial suction curette: a comparison of three sampling methods in postpartum endometritis. Obstet Gynecol 4:273-276.
23. Martinez-Berganza A. 1990. Manejo de las neumonías. Edición Elba.
24. Mc Lowry 3.9., Murray P.R. and Reller L.B. 1982. Cumitech 1A, Blood Cultures II. Coordinating Ed.: J.A. Washington American Society for Microbiology, Washington, D.C.
25. Nahass R.G. and Weinstein M.P. 1990. Qualitative intravascular catheter cultures do not predict catheter-related bacteriemia. Diag Microbiol Infect Dis 13:223-226.
26. Newman M.G., Grawford A. 1976. Studies of microbiology of periodontitis. J Periodontol 47:375-379.
27. Odds F.C. 1988. Candida and Candidosis. British Library. London.
28. Peña Yañez J.1983. Micología clínica. Técnica y diagnóstico de las micosis. Editorial Ciencia 3.
29. Perea Pérez J.1991. Enfermedades infecciosas. Ediciones Doyma S.A. Barcelona.
30. Piédrola G.1987. Diagnóstico de las infecciones. En Microbiología y Parasitología Médica de Pumarola A., Rodriguez-Torres A., García-Rodriguez J.A. y Piedrola G. Salvat Eds. Barcelona:311-319.
31. Simor A.E., Roberts F.J., Smith J.A. 1988. Cumitech 23, Infections of the skin and subcutaneous tissues. Coordinating Ed.; Smith J.A. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
32. Sitges-Serra A., Lifiarés J. and Garan J. 1985. Catheter sepsis: the cule is the lub. Surgery 97:335-337.
33. Slots J. 1987. Microbiology of periodontal disease. J Periodontitis Res 22:335-341.
34. Societé Européenne de Mycobactériologistes por un comité ad hoc. 1984. Mycobacteriologie Clinique et de Santé Publique. Paris.

- 35.** Stamey T. 1980. The diagnosis, localization and classification of urinary infections p1-51. In TA. Stamey (Ed), Pathogenesis and treatment of urinary tract infections, The Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- 36.** Summanen P., Baron E.J., Citron E.M., Strong C., Wexler H.M., Tenover F.C. 1993. Wadsworth Anaerobic bacteriology manual Star Publishing Co. Belmont.
- 37.** Sundquist G.K., Eckerbom H., Sjögren V.T. 1979. Capacity of anaerobic bacteria from neurotic pulps to induce purulent infections. Infection and Immunity 25:685-693.
- 38.** Symington D.A. 1975. Improved transport system for *Neisseria gonorrhoeae* in clinical specimens. J Clin Microbiol 2:498-503.
- 39.** Vandepitte J., Engbaek K., Piot P., Heuck C.G. 1993. Métodos básicos de laboratorio en Bacteriología Clínica. OMS. Ginebra.
- 40.** Verger G., Llobet J.M., León C. 1988. Infecciones respiratorias. Enfermedades infecciosas. Ediciones Doyma S.A. Barcelona.
- 41.** Washington J.A. 1985. Laboratory Procedures in Clinical Microbiology (2ª Ed). Springer Verlag. New York.
- 42.** Washington J.A. 1992. Clinical Microbiology. En Infections diseases. Gorbach S.L., Bartlett J.C. Blacklow N.R. (eds) 107-126. W.B. Saunders Co. Philadelphia.