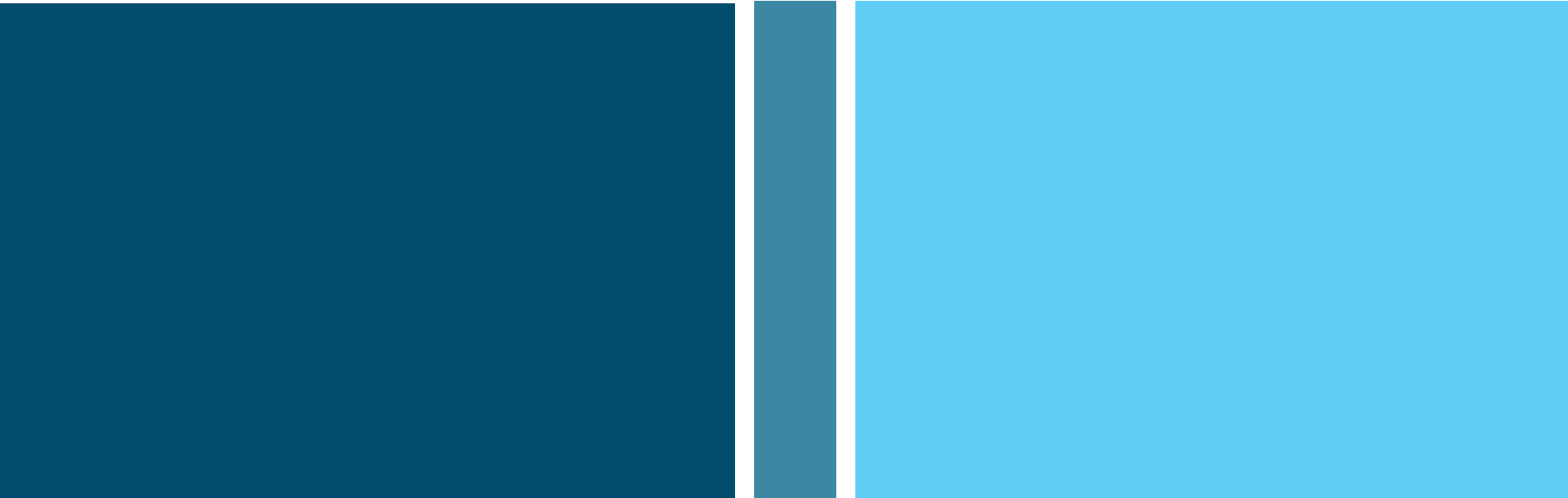


1

NORMAS GENERALES, PROTOCOLO DE RECOGIDA, CONSERVACIÓN, TRANSPORTE Y MUESTRAS CLÍNICAS RECOMENDADAS PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES MÁS COMUNES.

Dra Valle Otero Bernal, Dra Encarnación Clavijo Frutos y
Dra Isabel Viciano Ramos





NORMAS GENERALES PARA LA RECOGIDA DE MUESTRAS

1. La muestra debe ser “representativa” del proceso infeccioso. Ejemplo: Los microorganismos aislados del orificio y bordes de una fístula no reflejan la etiología de la misma sino que normalmente son contaminantes.

2. Debe recogerse una cantidad suficiente para asegurar un examen apropiado.

3. Las muestras deben recogerse en dispositivos estériles y herméticos.

4. Todas las muestras deben ser transportadas lo antes posible al laboratorio de Microbiología. Si esto no es posible debe tenerse en cuenta, que la mayoría de las bacterias resisten bien las temperaturas bajas, por lo que los productos patológicos pueden mantenerse en nevera unas horas; **excepto el líquido cefalorraquídeo, hemocultivos, exudados y muestras para anaerobios que no deben ser refrigeradas.**

5. La recogida del producto debe realizarse en condiciones de máxima asepsia, evitando contaminaciones ambientales, del personal, y del propio enfermo.

6. Todas las muestras destinadas al Laboratorio de Microbiología deben ser tratadas como potencialmente peligrosas, lo que elimina la necesidad de etiquetas especiales para determinadas muestras.

7. El material destinado a cultivos no debe estar en contacto con sustancias desinfectantes.

8. Cada recipiente conteniendo una muestra debe ir identificado con el nombre del paciente, fecha y hora de recogida y acompañado del correspondiente volante de petición con todos los datos con letra legible.

9. Es deseable que la obtención de la muestra se realice antes de comenzar cualquier terapia antimicrobiana.

10. Medios de transporte:

- **Hisopos:** Tienen la ventaja de ser económicos, fáciles de utilizar y transportar. Son desventajas la escasa cantidad de muestra que se toma, no suficiente para el estudio microscópico y cultivos. Solo se recupera el 10% de las bacterias existentes en el hisopo.

- **Indicaciones:** Toma de muestras de piel y mucosas para bacterias aerobias y hongos. Toma de muestras de secreciones faríngeas, vaginales y uretrales.
- **Contraindicaciones:** pus o exudados que puedan ser recogidos por otros medios.
- **No se recuperan bacterias anaerobias ni micobacterias.**

- **Jeringas:** muestras de líquidos orgánicos o pus de cualquier origen, debe extraerse el aire y poner tapón.

- **Frascos y tubos:** líquidos orgánicos de cualquier origen, tejidos, deben ser estériles y con cierre hermético.

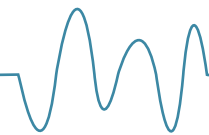
11. **Envío al Laboratorio de Microbiología:** Toda muestra destinada al Servicio de Microbiología debe ser enviada de forma inmediata. La recepción de muestras se establece de 8,30 a 19,30 h. de lunes a viernes. Los sábados, domingos y festivos 9:00 a 14:30

12. **Rechazo de muestras:**

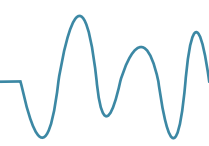
- Muestras inadecuadas para la evaluación de la enfermedad que se pretende diagnosticar.
- Muestras inadecuadamente conservadas.
- Muestras inadecuadamente identificadas tanto el contenedor como el vale de petición.

13. **CONTACTO CON EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**

- Urocultivos, Coprocultivos, E.T.S. y Hemocultivos 932288
- Serología ext.: 932292
- Exudados y Respiratorio ext.: 932273
- Secretaría ext.: 93229



TIPO DE INFECCIÓN	MUESTRA	COMENTARIO
Bacteriemia	Hemocultivos seriado	
Infecciones cardiovasculares y asociadas a dispositivos intravasculares		
Endocarditis	Hemocultivo/válvula/verrugas	
Infección del catéter	Catéter IV, piel pericatóter conexión del catéter.	
Pericarditis	Líquido pericárdico	
Sistema nervioso central		
Abscesos cerebrales	Aspirados de abscesos	
Meningitis	LCR, hemocultivo	
Tracto Respiratorio		
Empiema y abscesos pulmonares	Líquido pleural, aspirados de abscesos nasofaríngeos, nasal.	Detección de S. aureus.
Faringoamigdalitis	Exudado Faríngeo	
Neumonía	Espudo, muestra de fibrobroncoscopia, punción transtorácica aspirativa, broncoaspirado. Hemocultivo y suero.	
Otitis externa	Exudado oído externo	
Otitis media	Timpanocentesis	
Sinusitis	Aspirado sinusal	No validos Exudados nasales
Infecciones Oculares		
Conjuntivitis	Exudado conjuntival/raspado.	
Endoftalmitis	Líquido intraocular	
Queratitis	Raspado corneal	
Infecciones Gastrointestinales		
Diarrea	Heces/biopsia intestinal/ aspirado duodenal	
Infecciones Intraabdominales		
Abscesos intraperitoneales y viscerales	Aspirados de absceso	
Colecistitis	Líquido biliar	
Peritonitis	Líquido peritoneal	
Tracto Urinario		
Infección urinaria	Orina (micción media), orina obtenida mediante punción suprapúbica	Diagn. de bacteriuria por anaerobios y de ITU en niños



TIPO DE INFECCIÓN	MUESTRA	COMENTARIO
Tracto Genital		
Cervicitis	Exudado endocervical	
Nódulos genitales	Aspirado del nódulo	
Prostatitis	Secreciones prostáticas	Acompañada de orina pre y post masaje prostático
Screening embarazadas	Vagino-rectal	
Úlceras genitales	Raspado de la úlcera	
Uretritis	Exudado uretral	
Vulvovaginitis	Exudado vaginal	Detección de <i>S. agalactiae</i> (también en exudado rectal)
Piel y Tejidos Blandos		
Impétigo, foliculitis, erisipela, celulitis, úlceras, infecciones gangrenosas, abscesos cutáneos, heridas y quemaduras	Preferiblemente aspirados tomados con jeringa y biopsias de tejido. Son menos recomendables las muestras en torundas	
Huesos y Articulaciones		
Artritis	Líquido sinovial	
Osteomielitis	Biopsia ósea o exudado	

Laboratorio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga.

HEMOCULTIVOS

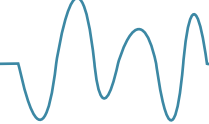
Para un adecuado rendimiento debe tomarse antes del inicio del tratamiento antibiótico.

Muestra: sangre, muestra estéril. Se obtiene por venopunción, un número mínimo de 2 muestras y máximo 3, con un intervalo entre ellas de 30-60 minutos, en los casos que se sospeche bacteriemia continua la extracción puede realizarse en cualquier momento, en el resto de situaciones el mejor momento es previo al inicio de la hipertermia. La cantidad a extraer es de 10 ml por extracción que se distribuye a partes iguales en un frasco anaerobio y otro aerobio. En caso de sospecha de infección de catéteres se puede combinar la extracción por venopunción y a través del catéter o reservorio (con identificación de origen de las muestras). En situaciones de dificultad técnica la muestra se puede obtener de sangre arterial/catéter/reservorio venoso.

Asepsia: Se limpiara el punto elegido de la piel con alcohol isopropílico o etílico al 70%. Se comenzara por el centro y se irán haciendo círculos concéntricos hacia la periferia en una zona de al menos 10 cm de diámetro. Repetir el paso anterior pero con tintura de yodo al 1 O 2% o Betadine, durante 30 segundos. También se puede utilizar povidona yodada durante un minuto. Si el paciente es alérgico al yodo limpiar dos veces consecutivas con alcohol.

Si se preserva la esterilidad del campo el técnico usara guantes de un solo uso, si precisa tocar el campo estéril guantes estériles.

Identificación: frascos y vale de peticiones con identificación del origen en caso de extracciones por vías diferentes. En caso de sospecha de gérmenes de requerimientos especiales consignarlo en el vale de peticiones.



Transporte y conservación: Debe ser remitido al laboratorio de microbiología lo más rápidamente posible, en horarios en los que está cerrado conservar en el área de extracción a la temperatura ambiente.

MUESTRAS TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

Espujo: Es la muestra más cómoda de recoger, pero su rendimiento puede ser escaso si no conseguimos una muestra apropiada y representativa de secreciones bronquiales: Es recomendable el primer espujo de la mañana. Enjuagar la boca con agua destilada estéril o solución salina. No usar antisépticos. Procurar que la expectoración sea lo más profunda posible.

En el caso de no ser posible la expectoración se procede a la inducción del espujo mediante nebulización con aerosol que contenga una solución de ClNa al 5-10% tibia durante 10 minutos o hasta que se inicie un fuerte reflejo tusígeno.

Se recoge en un envase estéril de boca ancha y con tapón de rosca, enviándolo rápidamente al laboratorio (no tardar más de 2 horas). Si se retrasa el envío al laboratorio **conservar en frigorífico a 4°C**.

En el Laboratorio se valorará microscópicamente por medio de Tinción de Gram y solo se procesaran aquellas muestras de carácter purulento y probable origen bronquial: Menos de 10 células epiteliales y más de 25 polimorfonucleares por campo.

Otras muestras: Broncoaspirado, lavado broncoalveolar, cepillado bronquial, punción transtraqueal y biopsia pulmonar.

MUESTRAS ENTÉRICAS

Heces: recoger la muestra en un recipiente tipo orinal sin restos de jabón o detergente, no usar papel higiénico para secarlo, seleccionar la parte más patológica (sangre, pus, moco, líquida) 5-10 gr o 10 cc, introducirlo en un envase estéril de boca ancha y con tapón de rosca, enviándolo rápidamente al laboratorio (no tardar más de 2 horas). Si se retrasa el envío al laboratorio **conservar en frigorífico a 4°C**.

Escobillones o hisopos rectales solo en estudios epidemiológicos de colonización.

Técnicas: examen macroscópico, microscópico en fresco tras tinción con azul de metileno (presencia de leucocitos), cultivos, látex (*Clostridium difficile*, *Rotavirus*, *Adenovirus*), detección de toxinas (*Clostridium difficile*)

MUESTRAS URINARIAS

Si es posible la muestra debe recogerse antes de la toma de antibiótico. La muestra más adecuada es la primera micción de la mañana y la parte media de la micción. Recipiente de boca ancha y cierre hermético.

Asepsia de campo:

Mujer: Separar los labios uretrales y lavar cuidadosamente la vulva con gasa empapada en solución jabonosa neutra no bactericida (sin hexaclorofeno ni antisépticos parecidos). La operación se repite tres cuatro veces con movimientos de lavado de delante y arriba hacia atrás y abajo del meato urinario. Los restos de jabón se eliminan con una gasa con abundante agua hervida.

Hombre: Retirar el prepucio y lavar el glande con gasa empapada en solución jabonosa no bactericida. Eliminar los restos de jabón, secar y recoger la muestra en las mismas condiciones del caso anterior.

Niños: Bolsa de plástico adaptada a genitales. Lavar y secar de forma similar a la utilizada para adultos. Colocar la bolsa sobre los genitales y fijarla mediante el adhesivo que incorpora, y esperar que la orina fluya espon-

mente, retirando la bolsa tan pronto como se produzca la micción.

Pacientes con catéter permanente: Usar guantes, Desinfectar la superficie del catéter con alcohol y solución yodada. Pinchar oblicuamente con aguja y jeringa estéril. Extraer 10 cc de orina. Enviar la jeringa o vaciar su contenido en un recipiente estéril.

Conservación y transporte: Las muestras de orina deben remitirse al laboratorio inmediatamente. Si ello no es posible, se guardaran en nevera a 4°C.

EXUDADO PROSTÁTICO

Toma de muestra: Un suave masaje digital de la próstata por el recto puede inducir una descarga que puede ser cultivada. En pacientes en los que no hay pruebas clínicas concluyentes de prostatitis, se obtendrá información útil con una modificación de la prueba de los tres vasos, de acuerdo con el siguiente proceder: a) Preparar los genitales de la misma forma que si se fuera a recoger una muestra aséptica. b) Recoger una primera muestra de la mitad de la micción (muestra n° 1). c) Hacer que el paciente vacíe por completo la vejiga. d) Después de masaje prostático, recoger los 10 cc primeros de orina cuando el paciente vuelva a orinar (muestra n° 2). Enviar ambas muestras lo más rápidamente posible al laboratorio.

LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

Antes de realizar la punción lumbar se desinfectará la zona siguiendo la misma normativa ya expuesta para los hemocultivos.

La muestra se recogerá en tres tubos sin conservantes y con tapón de rosca. Evitar en cualquier caso tapar los tubos con algodones o gasas. El primer tubo se mandara a bioquímica; el segundo se enviara a Microbiología y el tercero puede utilizarse para investigación citología. En cualquier caso mandar siempre el tubo mas turbio a Microbiología.

Volumen: Para el estudio bacteriológico rutinario es suficiente 1 cc aunque son preferibles volúmenes superiores. Si se desea la investigación de hongos o micobacterias se necesitan al menos 5 cc, deseable el envío de 10 cc

Transporte: Una vez recogida la muestra en un tubo estéril con tapón de rosca, debe llevarse inmediatamente al laboratorio de Microbiología, pues alguno de los agentes bacterianos como *Streptococcus pneumoniae* puede lisarse rápidamente. Si la punción se realiza en horario de tarde, noche o festivo llevar el liquido al laboratorio de urgencias. Si no fuera posible transportarlo inmediatamente, mantenerlo a 37°C (nunca a temperatura ambiente ni en nevera) y una parte se introducirá en un frasco de hemocultivos que se mantendrá en idénticas condiciones hasta su procesamiento por el laboratorio.

Serología del LCR: Si lo que se solicita es un estudio serológico del LCR, es necesario conservar la muestra en nevera a 4°C. En general, en los casos de solicitud de estudio serológico se debe enviar simultáneamente una muestra de suero del enfermo con las mismas peticiones de investigación serológica.

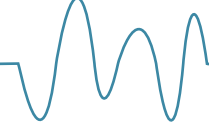
LÍQUIDOS HABITUALMENTE ESTÉRILES

Tipos: Liquido pericárdico, Liquido pleural, Liquido peritoneal, Liquido biliar, Liquido articular.

La aspiración percutan del liquido pleural, pericárdico, peritoneal o sinovial debe hacerse asépticamente para evitar cualquier contaminación.

Todos los líquidos corporales deben enviarse en frascos estériles con tapón de rosca o en jeringa con capuchón y sin aire, con al menos 1 cc.

Si la toma se realiza en el curso de una intervención quirúrgica, se debe desaconsejar el uso de hisopos, siendo



siempre preferible la aspiración con jeringa. El hisopo solo se utilizara en caso de que la muestra no pueda ser aspirada. Volumen: Entre 1-10cc. Si se quiere investigación de Mycobacterium u hongos el volumen no debe ser nunca inferior a 10 cc.

Transporte: Si se necesita utilizar anticoagulantes, usar heparina ya que otros anticoagulantes pueden tener acción antibacteriana. Enviar lo antes posible al laboratorio. En caso de demora **conservar la muestra en estufa nunca en nevera.**

ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

Exudado vaginal: Con la paciente en posición ginecológica se introducirá un espejulo sin lubricante (si es necesario lubricar utilizar agua templada). Recoger la muestra, bajo visión directa, con una torunda, de la zona con mayor exudado o en su defecto, del fondo del saco vaginal posterior. Repetir la operación con una segunda torunda. Una torunda se destinara al estudio microscópico y la otra al cultivo.

El envío de las muestras debe ser inmediato siempre que sea posible. Cuando la muestra no pueda procesarse antes de 15 minutos deberán utilizarse torundas con medio de transporte, que se mantendrán a temperatura ambiente o preferentemente en estufa a 35-37°C hasta el momento de la siembra, que deberá realizarse antes de 3-6 horas.

Exudados endocervicales: Con la paciente en posición ginecológica se introduce el espejulo sin lubricar o lubricado con agua templada. Valiéndose de una torunda estéril sin medio de transporte retirar el tapón mucoso cervical. Desechar esta torunda. Pasar a continuación otra torunda por el endocervix rotando durante 30 segundos. Inmediatamente después de hecha la toma se coloca la escobilla en el tubo con medio de transporte.

Como el moco es muy sensible a los agentes externos, la muestra debe remitirse al laboratorio con urgencia. Deberán recoger dos torundas, una destinada al examen microscópico y la otra al cultivo.

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

Limpiar cuidadosamente la mucosa circundante con gasas estériles. En caso de exudado abundante puede tomarse al fluir espontáneamente o por expresión suave de la uretra. Esta se efectuara de atrás hacia delante durante 4 o 5 veces, cogiendo la muestra con torunda de algodón. En caso de exudado pobre o inexistente introducir un escobillón uretral 2 cm. en la uretra y rotar suavemente durante 30 segundos. Deben tomarse dos torundas por muestra, una para examen microscópico y otra para cultivo.

Exudados rectales: 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 intentara evitar el contacto con materia fecal. Cuando la torunda salga manchada de heces deberá tomarse una nueva muestra.

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, que se mantendrán en estufa a 35-37°C hasta su procesamiento.

Exudado faríngeo: Esta muestra solo es útil para la búsqueda de gonococo. La toma no difiere de la utilizada para la investigación de otros patógenos a este nivel. (Ver apartado correspondiente). No demorar el envío al laboratorio de la muestra una vez tomada. Usar escobilla con medio de transporte.

Ulceras genitales: La toma de muestras en este tipo de lesiones requiere la utilización de guantes desechables.

Chancro sifilítico: Para la toma de muestra se deben limpiar los bordes de la ulceración con una almohadilla de gasas humedecidas en solución salina fisiológica. No usar jabón ni detergentes a que pueden tener actividad antitreponémica. Con una gasa seca frotar hasta producir una pequeña cantidad de sangre. Secar la sangre hasta que pare el sangrado. Presionar sobre los márgenes de la lesión hasta obtener una pequeña cantidad de líquido seroso. Retirar este material con ayuda de un cubreobjetos. Colocar la muestra sobre un porta bien limpio y llevar inmediatamente al microscopio observando en campo obscuro.

La no observación de espiroquetas no excluye un chancro sifilítico. Antes de considerarse un examen negativo

deben de estudiarse tres muestras en días consecutivos.

Chancro blando: Lo más frecuente es que las úlceras son múltiples, aun cuando no es rara la presencia de una única ulceración.

Las lesiones chancroides se limpian con solución salina estéril y la base de la ulcera se toca con una escobilla humedecida en caldo. Enviar la muestra con rapidez al laboratorio en medio de transporte, indicando la sospecha clínica de chancro blando.

Herpes simple: Se hará la toma con un equipo especial que facilitara el laboratorio de Microbiología previa petición.

Úlceras genitales sin orientación diagnóstica: La metódica es la misma que para las úlceras sospechosas de chancro blando.

INFECCIONES DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS

Úlceras v heridas superficiales: 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. En muestras líquidas se intentara obtener 1-10 cc. En el resto de las ocasiones se enviara la mayor cantidad posible.

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

Las muestras recogidas con torunda son de escasa rentabilidad y deben obtenerse solo en circunstancias muy excepcionales, cuando no se pueda recoger la muestra por otros métodos. La conservación nunca debe hacerse en nevera.

Abscesos cerrados: Desinfectar la piel. Limpiar la zona con alcohol, de forma concéntrica comenzando por el centro. Abarcar una zona de unos diez centímetros. Repetir la operación con povidona. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, en lugar de Povidona se utilizara 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. Remitir la muestra en el interior de la jeringa utilizada para la punción debidamente identificada. Deberá enviarse un volumen de muestra entre 1 y 5 cc. Las muestras deben enviarse al laboratorio tan pronto como sea posible. Hasta que esto suceda mantenerlas a temperatura ambiente.

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

Ampollas: 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. Se obtendrá el máximo volumen de muestra posible. Transporte y conservación igual que en los apartados anteriores.

CATÉTERES Y DRENAJES

Catéteres intravasculares: El catéter será retirado en condiciones asépticas, para lo cual se procederá a la desinfección de la piel que rodea la zona de punción con povidona yodada dejándola secar tras su aplicación. A continuación, empleando guantes, se retirara el catéter con unas pinzas estériles, evitando el contacto con la piel. Una vez retirado, cortar con unas tijeras estériles el segmento distal del mismo e introducirlo en un contenedor estéril para su envío al laboratorio.

La muestra será enviada inmediatamente al laboratorio en un periodo no superior a 30 minutos, debidamente etiquetada y con el nombre del paciente.

Otros catéteres y drenajes: Solo se cultivaran catéteres que hayan estado en contacto con líquidos ordinaria-

mente estériles (endovasculares, LCR,... etc.) y utilizando la misma metodología que la descrita en el apartado anterior.

En lo referente a material de drenaje y puntas de catéter vesical, biliar, puntas de redon, etc. no serán considerados muestras validas para cultivo. En casos especiales debidamente justificados se podrán procesar estas muestras, previo contacto con el servicio de Microbiología.

MUESTRAS OFTALMOLÓGICAS

Frotis conjuntivales: Debe obtenerse la muestra antes de la instilación de los analgésicos locales, colirios o antibióticos. En caso de aplicación esperar un mínimo de 4 horas antes de efectuar la toma de la muestra. Con una torunda mojada en suena fisiológico frotar sobre la conjuntiva tarsal inferior y el fornix.

El transporte deberá ser inmediato. Cuando no sea posible, se utilizaran hisopos con medio de transporte que se mantendrán a temperatura ambiente.

MUESTRAS ÓTICAS

Oído externo: Limpieza del oído externo con un antiséptico suave. Se tomara la muestra 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.

Se utilizara una torunda para cada oído. Si las muestras no pueden enviarse inmediatamente al laboratorio de Microbiología se emplearan medios de transporte, que se mantendrán a temperatura ambiente.

Oído medio: Timpanocentesis debe obtener la muestra un especialista en O.R.L. o personal entrenado para ello. Se limpiara el canal auditivo externo con una torunda impregnada en Povidona yodada. Se puncionara el tímpano a través de un otoscopio estéril. La muestra se enviara en un contenedor estéril. Si no hay cantidad suficiente se tomara con torunda.

Toma de muestras con tímpano roto: Tras la limpieza del canal externo se tomara la muestra con torunda a través de un otoscopio estéril. Volumen de la muestra: Se intentara obtener la mayor cantidad de exudado posible.

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

TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

Tracto faringo-amigdalino: Bajo visión directa, con la ayuda de un depresor lingual, se tocará con la torunda 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. Basta con una torunda. No requiere medidas especiales para su transporte y conservación.

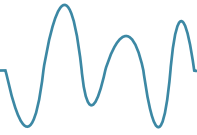
Tracto nasofaríngeo: Pasar la torunda a través de la nariz suavemente, hasta llegar a la nasofaringe. Hay que mantener la torunda cerca del septum y suelo de la fosa. Rotar la torunda y extraerla. Utilizar torundas de alginate cálcico flexibles.

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

Las muestras deben procesarse antes de dos horas

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

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 instilar 1 cc 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. Se intentara obtener al menos 1 cc de la muestra. Debe enviarse inmediatamente al laboratorio.

Cavidad oral: Esta muestra se emplea habitualmente para el diagnóstico de candidiasis o de la “Angina de Vincent”.

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 (solo para la investigación de *Cándida albicans*). No se requieren medidas especiales para su transporte y conservación.

MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO POR TÉCNICAS SEROLÓGICAS Y/O BIOLOGÍA MOLECULAR

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

La muestra de sangre para la realización de estudios serológicos o de biología molecular debe extraerse de una vena, previa desinfección de la piel. Para la obtención de **suero**, los recipientes más idóneos son los tubos estériles sin anticoagulante y con gel separador. La obtención de **plasma** requiere recoger la muestra con un anticoagulante, siendo recomendable **EDTA**.

El volumen de muestra necesario y la conservación de la misma, dependerá de las características de las técnicas a realizar (inmunoensayos convencionales o técnicas de biología molecular). El volumen recomendado para cada venopunción es de **5 ml** de sangre, utilizándose generalmente las venas del antebrazo. Se debe comprobar que la muestra se corresponde con los datos demográficos e identificación del paciente que figuran en la petición. En la actualidad, se considera muy recomendable la identificación de la muestra mediante etiquetas con código de barras.

TRANSPORTE DE LA MUESTRA AL LABORATORIO

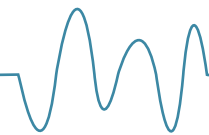
Debe realizarse lo más rápidamente posible. Se considera que las muestras conservadas a temperatura ambiente deben ser transportadas en un tiempo no superior a dos horas. Si la demora es mayor, se recomienda el transporte con refrigeración entre 2-8°C. Si la muestra va a ser procesada mediante técnicas de biología molecular, se recomienda el envío inmediato; si no es posible, debe ser refrigerada entre 2-8°C, aunque lo más recomendable es proceder a su congelación y enviarla en tal estado. Centrifugar la muestra en el punto de extracción antes de ser remitida al laboratorio, favorecerá la conservación de la misma.

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

Los sueros se deben recoger en la forma habitual y evitar mantenerlos más de 24 horas a temperatura ambiente. Para minimizar las contaminaciones microbianas se recomienda usar tubos estériles y no conservarlos a +4°C más de 72 horas. Para periodos de conservación más prolongados se deben utilizar temperaturas entre -20° y -70°C, sobre todo si se prevé la necesidad de detectar antígeno p24 u otros componentes estructurales del VIH, ya que estos últimos se desnaturalizan paulatinamente a temperaturas superiores.

DETERMINACIÓN DE LA CARGA VIRAL VIH-VH

La muestra necesaria para la determinación de la Carga Viral Plasmática de VIH-1 y VHC es un tubo de sangre anticoagulada con EDTA de 5-10 mL. No son aceptables los tubos con heparina, que interfiere con algunas técnicas moleculares, ni el suero porque los resultados son menos consistentes. En general la sangre completa se debe centrifugar y separar el plasma dentro de las primeras 4-6 horas inmediatas a la extracción.



ESTUDIO DE RESISTENCIAS GENOTÍPICAS DEL VIH-1

La muestra adecuada para el estudio genotípico de resistencia de VIH-1 es plasma, con las mismas consideraciones de recogida, transporte y conservación que en el caso de determinación de carga viral plasmática.

NORMAS PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS DESDE OTROS HOSPITALES DEL ÁREA DE REFERENCIA:

Debe efectuarse la separación del plasma en las 2-3 horas desde el momento de la extracción. La muestra se puede enviar sin congelar siempre que la recepción en el laboratorio de secuenciación se vaya a realizar en el mismo día de la extracción. En caso contrario es necesario congelarla en el laboratorio de origen. En el momento de la recogida por la empresa de transportes, introducir dos alícuotas (2 mL cada una) de cada paciente en un recipiente de seguridad biológica (SARSTEDT o similar), y este en un contenedor de poliestireno para envío refrigerado con hielo seco. Precintar y enviar.

DETERMINACIÓN DE PCR CUALITATIVA VHC, GENOTIPADO VHC/VHB Y RESISTENCIAS DE VHB

La muestra adecuada para el estudio genotípico de PCR cualitativa de VHC, genotipado de VHC, y genotipado y resistencias de VHB es suero, con las mismas consideraciones de recogida, transporte y conservación que en el caso de otras determinaciones serológicas.

DETERMINACIÓN DE LA CARGA VIRAL VHB

La determinación de carga viral de VHB puede realizarse indistintamente en suero ó plasma.

DIAGNÓSTICO VIRUS HERPES Y ENTEROVIRUS

Afectación del SNC: el líquido cefalorraquídeo (LCR) es la muestra idónea Se debe recoger por medio de una punción lumbar, previa desinfección de la piel, y enviarlo al laboratorio en un contenedor estéril, con volumen entre 0,5-1 mL. No debe demorarse el transporte al laboratorio ni su procesamiento.

Afectación sistémica: La muestra adecuada para realizar PCR de Virus Herpes y Enterovirus en sangre es plasma, con las mismas consideraciones de recogida, transporte y conservación que en el caso de determinación de carga viral plasmática.

ESTUDIO DE HERPES GENITAL

Exudado de úlceras. Para ulceraciones con sospecha de infección por VHS se debe romper la vesícula y recoger el líquido con una torunda estéril o bien aspirar el líquido y después raspar la base de la vesícula con un bisturí y recoger con una torunda de algodón frotando vigorosamente la base de la vesícula. Si no se obtuviera líquido, se debe añadir una gota de solución salina a la lesión o aspirar el material de la base de la lesión con aguja y jeringa.

Exudados vaginales. Se precisa un espéculo que se introducirá sin la utilización de lubricante. Utilizando una torunda de algodón se recomienda recoger el exudado de la zona donde éste sea más abundante, o en su caso, del fondo de saco vaginal posterior. Se deben enviar dos muestras, vaginal y endocervical. Enviar sin medio de transporte.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS (CMV)

Afectación sistémica: La muestra adecuada para realizar PCR de Citomegalovirus en sangre es **plasma**, con las mismas consideraciones de recogida, transporte y conservación que en el caso de determinación de carga viral plasmática. Las muestras de **orina** no requieren conservantes especiales, sino un transporte y procesamiento rápidos, al igual que la saliva o las **secreciones respiratorias** (volumen 5-10 mL).

Colitis ulcerosa: Las biopsias y piezas sólidas pueden ser remitidas al laboratorio en un contenedor estéril, preferiblemente con suero fisiológico o medio de transporte de virus [medio mínimo esencial (MEM) con suero bovino fetal o albúmina y una solución de antibióticos] cuando su tamaño lo permita.

DIAGNÓSTICO DEL PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV)

Exudado anal: Para realizarlo, se debe introducir una torunda de algodón sin medio a través del esfínter anal unos 3 cm y rotar contra las criptas rectales durante unos segundos. Se ha de evitar el contacto con materia fecal, lo que invalidaría la muestra, obligando a una nueva toma. Se emplearán torundas de alginato cálcico o dacrón sin medio de transporte.

Exudado balano-prepucial: Se debe recoger la muestra con una torunda estéril de algodón sin medio de transporte. Para realizar la toma se frotará la torunda en el surco balano prepucial.

Exudado endocervical: Antes de obtener la muestra es necesario limpiar el moco cervical con una torunda seca y descartarla. Posteriormente, se debe comprimir suavemente el cérvix con el espéculo para introducir otra torunda de algodón seca en el canal y tomar la muestra. Enviar sin medio de transporte.

Exudado faríngeo: Se utilizará un depresor lingual. Se debe frotar vigorosamente con la torunda de algodón sobre las zonas tonsilares, faringe posterior y zonas ulceradas, inflamadas o con exudados purulentos. Enviar sin medio de transporte.

Condilomas acuminados y Verrugas Vulgares: Son adecuadas dos tipos de muestras para el diagnóstico: la biopsia de 2-5 mm de diámetro o raspado activo de la lesión. Las biopsias y piezas sólidas pueden ser remitidas al laboratorio en un contenedor estéril, preferiblemente con suero fisiológico o medio de transporte de virus.

Exudado uretral: Para obtener un mejor rendimiento, el paciente no debe haber orinado en las 2 horas previas a la realización de la toma de la muestra. Se deben usar torundas finas con varilla de alambre, de alginato cálcico o dacrón. Se debe introducir la torunda suavemente por la uretra unos 2 cm realizando un movimiento de rotación. Enviar sin medio de transporte.

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS: De especial importancia es el envío inmediato de las muestras al laboratorio. Idealmente la muestra debe procesarse antes de 3 horas desde su recogida, y como máximo antes de 6-12 horas. Una vez en el laboratorio la muestra se introducirá en un medio de conservación para virus y se mantendrá en frigorífico a 2-8° C.