

Toma de muestras clínicas para el diagnóstico microbiológico

Judith C. Bernstein

1º edición

**TOMA DE MUESTRAS CLÍNICAS
PARA EL DIAGNÓSTICO
MICROBIOLÓGICO**

Bernstein, Judith Celina

Toma de muestras clínicas para el diagnóstico microbiológico / Judith Celina Bernstein. - 1a ed ilustrada. - La Plata: Judith Celina Bernstein, 2023.
46 p.; 30 x 21 cm.

ISBN 978-987-88-8000-6

1. Microbiología Aplicada. 2. Diagnostico Bacteriológico. I. Título.
CDD 616.9041

Fecha de catalogación: 3 de febrero de 2023

Fecha de la impresión: 15 de febrero de 2023

Editado e impreso en la Facultad de Ciencias Médicas. Calle 60 y 120 S/N, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

+54 221 4258987



TOMA DE MUESTRAS CLINICAS PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

AUTORA

Judith Celina Bernstein

Doctora en Medicina, Universidad Nacional de La Plata.

Especialista Consultora en Infectología

Profesora Titular. Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Jefa del Departamento de Articulación de las Ciencias Básicas y Clínicas. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Jefa de la Unidad de Infectología, Hospital Zonal General de Agudos "Mi Pueblo", Florencio Varela, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Este libro está dedicado a Axel y Alan Knauer

ÍNDICE

	Página
Introducción.....	9
Pasos del diagnóstico microbiológico.....	9
Muestras clínicas utilizadas para realizar estudios microbiológicos.....	10
Tipos de muestras clínicas para estudios microbiológicos.....	10
Decisión de la toma de muestra y selección de la muestra a recolectar.....	11
Recolección de la muestra.....	12
Orden de solicitud de estudio microbiológico.....	15
Obtención de la muestra.....	17
Transporte de la muestra.....	18
Criterios generales de rechazo para procesar las muestras.....	19
Toma de las principales muestras clínicas para estudio microbiológico.....	20
Sangre.....	20
Orina.....	28
Líquido cefalorraquídeo.....	32
Esputo.....	34
Aspirado traqueobronquial simple	34
Jugo gástrico.....	35
Lavado bronquioalveolar.....	35
Líquido pleural.....	37
Exudado de fauces.....	38
Secreción o exudado nasofaríngeo.....	39
Secreción de fosas nasales.....	39
Heridas superficiales y profundas.....	40
Exudado uretral.....	41
Exudado o flujo vaginal.....	41
Heces.....	43
Exudados oculares.....	45
Exudado ótico.....	45
Bibliografía.....	46

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas se basa en 3 pilares: el diagnóstico epidemiológico, el diagnóstico clínico y el de laboratorio.

Los primeros datos que nos aproximan al diagnóstico de un proceso infeccioso son los suministrados por la anamnesis y la exploración física del enfermo; sin embargo,

***EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DEFINITIVO DE LA
ENFERMEDAD INFECCIOSA SE OBTIENE POR LA
DEMOSTRACIÓN DEL AGENTE CAUSAL***

Es decir que, para realizar el diagnóstico de certeza de una enfermedad infecciosa, se debe demostrar la presencia del agente productor o de la huella que éste ha dejado en su contacto con el sistema inmunológico del individuo. El diagnóstico clínico debe ser confirmado por un diagnóstico de laboratorio. 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 infectológico clínico es el diagnóstico etiológico, que ofrece el laboratorio de microbiología clínica.

Sin embargo, toda la información diagnóstica que el laboratorio de microbiología puede proporcionar, depende de la calidad de la muestra recibida. Por ello, una toma de muestra 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 por los microbiólogos, pero no tanto por muchas de las personas que realizan las tomas de muestras en clínicas, salas y consultas, por lo que es necesaria la capacitación continua del 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 médico deberá conocer exhaustivamente los tipos de muestras que son más útiles en una infección determinada, el modo de obtenerlas y transportarlas, cuáles son los microorganismos que forman parte de la flora normal y si pueden ser o no patógenos en determinadas circunstancias.

Además es fundamental que pueda interpretar adecuadamente los resultados del examen directo, los cultivos y conocer la susceptibilidad a los antimicrobianos de los microorganismos aislados.

PASOS DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Los pasos para el diagnóstico microbiológico son una secuencia de acciones que el médico, en conjunto con el microbiólogo, deben realizar para arribar al diagnóstico correcto del agente etiológico de una enfermedad. Estos pasos son:

- 1. Decisión de la toma de muestra y selección de la muestra a recolectar**
- 2. Recolección de la muestra**
- 3. Transporte de la muestra**

4. Procesamiento de la muestra

5. Informe e interpretación de los resultados

En este módulo nos dedicaremos a desarrollar los aspectos más relevantes de los dos primeros pasos del diagnóstico microbiológico.

MUESTRAS CLÍNICAS UTILIZADAS PARA REALIZAR ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

La toma de muestra es un procedimiento especializado que consiste en la obtención de uno o varios especímenes biológicos con el fin de determinar y aislar él o los agentes etiológicos de una probable infección, con el fin de ayudar al médico clínico en la confirmación diagnóstica, la elección de la terapia antimicrobiana y la conducta epidemiológica a tomar frente al paciente y su entorno. Estos agentes son seres vivos que al retirarlos de su ambiente habitual, rápidamente pierden su viabilidad. Las principales causas de esta pérdida son la disminución de la temperatura la desecación y el descenso del pH.

Para realizar la investigación microbiológica se puede utilizar prácticamente cualquier tipo de muestra clínica obtenida del paciente; ello dependerá de la sospecha diagnóstica y del período de la enfermedad en que se encuentra el individuo afectado. Sin embargo, se deben considerar algunas normas básicas generales, que se describirán a continuación

1. Tipos de muestras clínicas para estudio microbiológico

Los principales tipos de muestras clínicas utilizadas son,

1. Sangre
2. Líquido cefalorraquídeo (LCR)
3. Orina
4. Heces
5. Esputo
6. Secreción respiratoria
7. Muestras respiratorias obtenidas por punción o broncoscopía (lavado bronquioalveolar)
8. Líquido pleural
9. Líquido pericárdico
10. Exudado faríngeo o nasofaríngeo
11. Exudado sinusal
12. Secreción de abscesos
13. Líquido sinovial
14. Líquido peritoneal
15. Exudado endometrial
16. Exudado endocervical
17. Exudado de fondo de saco vaginal
18. Exudado uretral
19. Líquido intraocular
20. Tejidos obtenidos por biopsia, punción, aspiración o raspado

También pueden utilizarse como muestras clínicas los catéteres intravasculares, prótesis y otro tipo de dispositivos.

En la tabla 1 se resumen las principales muestras clínicas recomendadas para el estudio microbiológico de las infecciones de mayor prevalencia.

Tabla 1. Muestras clínicas recomendadas para el diagnóstico microbiológico de las infecciones más comunes

Tipo de infección	Muestra	Comentarios
Bacteriemia	Hemocultivos	
Infecciones cardiovasculares y asociadas a dispositivos intravasculares (IV)		
Endocarditis	Hemocultivos/Válvula/Verrugas	
Infección del catéter	Catéter IV, piel pericatóter, conexión del catéter	
Pericarditis	Líquido pericárdico	
Sistema nervioso central		
Meningitis	LCR	
Abscesos cerebrales	Aspirados de abscesos	
Tracto respiratorio		
Faringoamigdalitis	Exudado faríngeo	No válidos los exudados nasales
Sinusitis	Aspirado sinusal	
Otitis media	Timpanocentesis	
Otitis externa	Exudado oído externo	
Neumonía	Espujo, muestras obtenidas por fibrobroncoscopia, punción transtorácica aspirativa, punción transtraqueal, broncoaspirado	
Empiema y abscesos pulmonares	Líquido pleural, aspirados de abscesos	Diagnóstico tosferina/Infecc. víricas Detección de <i>S. aureus</i>
	Nasofaríngeo	
	Nasal	
Infecciones oculares		
Conjuntivitis	Exudado conjuntival/raspado	
Queratitis	Raspado corneal	
Endoftalmitis	Líquido intraocular	
Infecciones gastrointestinales		
Diarrea	Heces/biopsia intestinal/ Aspirado duodenal	
Infecciones intraabdominales		
Peritonitis	Líquido peritoneal	
Abscesos intraperitoneales y abscesos viscerales	Aspirados de abscesos	
Colecistitis	Líquido biliar	
Tracto urinario		
Infección urinaria	Orina (micción media, sonda) Orina obtenida mediante punción suprapúbica	Diagnóstico de bacteriuria por anaerobios y de ITU en niños
Tracto genital		
Úlceras genitales	Raspado de la úlcera	Detección de <i>S. agalactiae</i> (también exudado rectal) Acompañada de orina pre y post masaje prostático
Nódulos genitales	Aspirado del nódulo	
Uretritis	Exudado uretral	
Vulvovaginitis	Exudado vaginal	
Cervicitis	Exudado endocervical	
Prostatitis	Secreción prostática	
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 tomadas con torundas	
Hueso y articulaciones		
Artritis	Líquido sinovial	
Osteomielitis	Biopsia ósea o exudado	
LCR: Líquido cefalorraquídeo		

2. Decisión de la toma de muestra y selección de la muestra a recolectar

La indicación de un estudio microbiológico para confirmar o descartar el diagnóstico presuntivo de una enfermedad infecciosa es decisión exclusiva del médico, ya que es él quien tiene la responsabilidad primaria sobre el paciente. Esta decisión debe estar secundada por una serie de conceptos básicos:

- **sospecha de etiología infecciosa** en el cuadro clínico del paciente basada, en la anamnesis, estudio físico, etc.

- determinar el **período evolutivo de la enfermedad** para decidir cuáles son las **muestras más representativas** que nos brindarán una mayor posibilidad de aislar el agente causal y cuál es el **momento óptimo** de tomar las muestras
- evaluar el **costo y el beneficio** del estudio para confirmar el diagnóstico clínico presuntivo.

En resumen, la muestra debe ser representativa del proceso infeccioso que se pretende diagnosticar, teniendo siempre en cuenta que en determinadas infecciones, muestras no relacionadas directamente con el foco clínico, pueden tener también un buen rendimiento microbiológico. El síndrome clínico y los posibles agentes etiológicos implicados condicionan no sólo el tipo de muestra a enviar sino también su procedimiento de obtención y el transporte al laboratorio.

3. Recolección de la muestra

Una vez que el médico ha tomado la decisión de realizar un estudio microbiológico debe proceder a recolectar la muestra, teniendo en cuenta que la misma debe ser:

- **Tomada en el momento óptimo para su recolección.** La muestra se debe recoger antes de iniciar cualquier terapia antimicrobiana; cuando esto no es posible, se obtendrán justo antes de la administración de la dosis del antimicrobiano, o tras 48 horas de retirado, indicándolo en la orden de solicitud del estudio
- **Representativa del foco infeccioso**
- **Obtenida para adquirir una adecuada cantidad de material.** En ocasiones una escasa cantidad de muestra puede ser la causa de falsos negativos. En caso de solicitar más de un estudio se debe mandar mayor tamaño de muestra y de no poder obtener suficiente, jerarquizar el diagnóstico.
- Recogida con materiales estériles y con técnica aséptica, siguiendo las normas de Bioseguridad en todo momento
- El material destinado a cultivo **no debe estar en contacto con sustancias desinfectantes o anestésicas**
- **Colocada en recipiente estéril y adecuado**, con cierres a prueba de fugas.
- **Rotulada con el nombre del paciente y el tipo de muestra** en el recipiente, no en la tapa.
- **Conservada correctamente**
- **Transportada rápidamente al laboratorio** con el objeto de asegurar la supervivencia de microorganismos de difícil crecimiento y de evitar el sobrecrecimiento de la flora normal
- **Remitida con resumen de historia clínica y diagnóstico presuntivo**

El informe microbiológico sólo indicará el resultado del examen microscópico, de los cultivos, la tipificación del germen aislado y el eventual antibiograma. Pero la falta de aislamiento del agente causal o la identificación de varios gérmenes de la flora normal no siempre se debe al empleo de una técnica inadecuada, sino que a veces es la consecuencia de una defectuosa recolección o manipulación de la muestra.

La recolección y el transporte de las muestras clínicas al laboratorio siempre es responsabilidad del médico que la solicita
--

Hay situaciones en que es conveniente la recolección de muestras junto a la cama del enfermo (hemocultivo), pero en otras es aconsejable realizarla en el propio laboratorio si se requiere una observación microscópica en fresco y una siembra inmediata.

- **Es indispensable que el material extraído represente fielmente el proceso infeccioso.** Esto significa que la muestra debe ser cuali y cuantitativamente útil. Una expectoración abundante y purulenta es significativa para el diagnóstico de una neumonía; en cambio, un esputo salivoso o mucoso, aunque sea abundante, no sirve porque arrastra flora comensal que se encuentra en saliva.
- **Debe determinarse con sumo cuidado el período de evolución de la enfermedad y el momento óptimo de la extracción;** se describen los siguientes ejemplos: *Bordetella pertussis* es el agente causal de la tos convulsa, pero las posibilidades de su recuperación de la nasofaringe declina con el tiempo, durante el período de incubación se recupera en el 80-90% de los casos, en la etapa paroxística en el 50% y durante la convalecencia en un 20%. Por lo tanto, debe evaluarse cuidadosamente la utilidad de solicitar un estudio bacteriológico según la fase clínica en que se encuentre el enfermo.

En el caso de la sífilis, la observación del agente causal (*Treponema pallidum*) por microscopía de fondo oscuro sólo será posible si el chancro sífilítico tiene menos de 15 días de evolución.

Salmonella Typhi, agente etiológico de la fiebre tifoidea, se recupera de hemocultivos realizados al comienzo de la enfermedad (primera semana); luego, se positivizan los cultivos de materia fecal (segunda semana de la enfermedad) y por último, el diagnóstico debe hacerse en base a técnicas serológicas (aglutinación de Widal) a partir de la tercera semana, ya que no es frecuente la recuperación en los cultivos.

- **Los materiales deben enviarse previa administración de cualquier antibiótico (ATB),** siempre que esto sea posible. Si la muestra fue obtenida bajo tratamiento ATB, siempre se deberá informar al bacteriólogo cuando se remita la muestra clínica. Es sabido que la obtención de un líquido cefalorraquídeo (LCR) purulento, luego de 24 horas de iniciada la terapia antimicrobiana puede revelar bacterias en la colaboración de Gram, siendo negativo el cultivo ya que, el antimicrobiano inhibe o mata a las bacterias y no desarrollan en los medios de cultivo.
- **La entrega de las muestras biológicas obtenidas al laboratorio debe hacerse siempre en el menor tiempo posible,** para permitir el rápido procesamiento de las mismas, ya que muchos agentes patógenos son sensibles a las condiciones ambientales y pueden perder viabilidad. En las muestras tomadas de zonas normalmente colonizadas, por ejemplo hisopado faríngeo, esputo, etc., las bacterias comensales pueden proliferar a temperatura ambiente a mayor velocidad que las patógenas, inhibiéndolas y haciendo disminuir su número, por lo tanto, sus posibilidades de recuperación en los medios de cultivo serán menores.
- **Cada tipo de muestra requiere su colocación en un recipiente adecuado y estéril para su recolección e incluso para el transporte de la misma.** Todas las muestras deberán ser enviadas lo más rápidamente posible al laboratorio. La mayoría de los microorganismos toleran las temperaturas bajas, por lo que las muestras pueden mantenerse en la heladera unas horas, aunque el LCR, exudados y muestras de bacterias anaerobias no deben ser refrigeradas. En todos los casos, el envío de la muestra debe hacerse en recipientes cerrados. Cuando la viabilidad de las bacterias es

muy escasa o la posibilidad de desecación de la muestra es muy grande y la toma de la misma 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 a la vez que impiden el crecimiento exagerado de otra flora bacteriana no deseada. Estos medios pueden ser para bacterias aerobias o anaerobias. En casos de envíos por correo, siempre se seguirán las normas existentes para el transporte de productos biológicos peligrosos.

Cada tipo de muestra requiere un material estéril para su recolección y transporte de la misma: frascos de boca ancha, tubos, hisopos, contenedores, etc. (Figura 1).



Figura 1. Recipientes para recolección de muestras microbiológicas. A y B: frascos de boca ancha. C: Hisopos con medio de transporte. D: Jeringas para punción.

➤ **Toma de muestras para microorganismos anaerobios.**

La búsqueda de bacterias anaerobias sólo se debe hacer cuando se pueda discernir su papel y tenga interés etiológico y terapéutico. La recolección de muestras para la investigación de bacterias anaerobias requiere una metodología particular para lograr que un bajo Ph se mantenga hasta el momento del cultivo de las mismas debido a que la presencia de oxígeno genera el anión superóxido y afecta la recuperación de estos microorganismos. Dado que generalmente las especies encontradas en las diferentes infecciones son las mismas que se hallan en la microflora habitual, para que los estudios microbiológicos tengan valor es necesario que las muestras sean tomadas de forma tal que la flora normal no las contamine. Por ese motivo se desaconseja el estudio de muestras nasales, orales o de vías respiratorias bajas recogidas por procedimientos que no impidan su contacto con bacterias de otras localizaciones, cutáneas, vaginales, urinarias tomadas por micción o sondaje o digestivas, salvo para determinadas patologías como botulismo, diarrea asociada a antimicrobianos y toxiinfección por *Clostridium perfringens*.

En los abscesos cerrados, empiemas, infecciones de cavidades cerradas y líquidos habitualmente estériles, las muestras se deben tomar por punción percutánea-

aspiración, empleando la técnica aséptica para la toma de hemocultivos, o durante el transcurso de una práctica quirúrgica. En estas y en otras situaciones se desaconseja el uso de hisopos. Las muestras de sangre se deben sembrar en frascos de hemocultivos para anaerobios.

En el transporte de una muestra para la búsqueda de bacterias anaerobias se debe evitar la presencia de oxígeno, aunque estas pueden sobrevivir horas o incluso días en un medio de transporte adecuado, dependiendo de su naturaleza. En las muestras purulentas los anaerobios pueden sobrevivir más tiempo que en los líquidos claros.

Si la muestra se toma mediante aspiración con jeringa, ésta no deben utilizarse como transporte, debido al riesgo de accidente punzante y la posible expulsión accidental de su contenido; además, el oxígeno difunde a través de la estructura de plástico de sus paredes. Una vez realizada la aspiración se deberá expulsar el posible contenido gaseoso, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles. A continuación, se cambia la aguja por otra estéril y se inocula el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en la superficie del agar de un vial de transporte para anaerobios. Para el transporte de muestras de tejido y biopsias en anaerobiosis se encuentran disponibles en el mercado tubos, frascos y viales con una atmósfera anaerobia que contienen un medio de transporte reducido y resazurina como indicador de la presencia de oxígeno (Port-A-Cul®, Becton Dickinson®, T.A.B®). El Transporte Anaeróbico (TAB®) es un medio universal de transporte muy utilizado, que mantiene la viabilidad de los microorganismos aerobios y especialmente de bacterias anaeróbicas luego de la recolección y durante el transporte de las muestras hasta su procesamiento en el laboratorio. Contiene sales minerales y agentes reductores para proporcionar un ambiente reducido y permitir la viabilidad de microorganismos anaerobios estrictos. El producto es elaborado en ausencia de oxígeno para prevenir la oxidación de sus componentes previo al uso. Por su tapón de goma es posible inocular directamente las muestras fluidas recolectadas inoculando directamente utilizando jeringa y aguja estéril. El envío de las muestras al laboratorio de microbiología debe ser inmediato. Se deben transportar manteniéndolas a temperatura ambiente.

Las temperaturas de incubación pueden ocasionar el sobrecrecimiento de especies poco exigentes, fundamentalmente facultativas, y la pérdida de algunas más sensibles, mientras que las temperaturas bajas permiten un aumento de la difusión del oxígeno.

4. Orden de solicitud de estudio microbiológico

Junto con la muestra debe enviarse la solicitud de análisis microbiológico, la cual debe contener la información clínica más relevante, que permite al microbiólogo la selección de medios de cultivo y técnicas adecuadas, para identificar el germen causal (Figura 2).

Cada muestra que se remite al laboratorio de microbiología deberá ir acompañada de la orden de estudio microbiológico, la cual deberá confeccionarse correctamente, con letra clara y legible y completamente cumplimentada, con el objetivo de suministrar al laboratorio la suficiente información para que la muestra se procese convenientemente y se puedan interpretar los resultados.

Servicio	Habitación	Cama	Fecha
----------------	------------------	------------	-------------

Apellido y Nombre																									
-------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

DNI / Historia Clínica	Fecha de nacimiento (dd/mm/aa)

Género	☐ Femenino ☐ Masculino
Edad	☐ Años ☐ Meses

Diagnóstico	
Enfermedad de Base	
Tratamiento ATB ultimas 72 hs (especifique cuál)	

MATERIAL REMITIDO	ESTUDIO MICROBIOLÓGICO SOLICITADO
	☐ Gémenes comunes ☐ BAAR ☐ Otro (especificar)

Stickers Hemocultivos <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; text-align: center;">Periféricos</td> <td style="width: 50%; text-align: center;">Transcatéter</td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; height: 80px; margin-bottom: 10px;"></td> <td style="border: 1px solid black; height: 120px;"></td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; height: 80px;"></td> <td style="border: 1px solid black; height: 120px;"></td> </tr> </table>	Periféricos	Transcatéter					Sticker otra muestra (especificar)
Periféricos	Transcatéter						

Firma y Sello

Figura 2. Orden de solicitud de estudio microbiológico

Toda orden deberá poseer las cinco áreas siguientes:

1. Filiación y datos administrativos, donde se deben especificar,
 - el nombre y apellido del paciente
 - sexo y edad del paciente
 - el nombre del médico solicitante
 - el Servicio y número de cama o si es una consulta ambulatoria
 - el número de historia clínica o documento del paciente
2. Datos clínicos relevantes del paciente, como
 - el diagnóstico presuntivo
 - comorbilidades existentes
 - el estado inmunitario
3. Datos de la muestra, como
 - la fecha de la obtención (en algunos casos, se requiere consignar la hora)
 - el tipo de muestra remitida (sangre, orina, esputo)
 - sitio exacto de la toma
 - procedimiento utilizado en la extracción de la muestra, o si se ha seguido alguna técnica especial (punción transtraqueal, vesical, etc.)

4. Terapéutica del paciente, consignando
 - antibióticos que se han administrado
 - tiempo desde la última toma o inyección

La muestra debe tomarse siempre antes de empezar un tratamiento antibiótico. Si esto no es posible, deben obtenerse justo antes de la administración de la dosis del antimicrobiano, o tras 48 horas de haberlo suspendido.

5. Especificar el tipo o tipos de estudios o determinaciones que se desean (cultivo para gérmenes comunes, tinción para BAAR, tinta china, gota fresca) y en caso de que se desee la búsqueda de un microorganismo determinado, se reseñará éste (*M. tuberculosis*, *Mycoplasma*, *Cryptosporidium*, Dermatofitos, etc.).

5. Obtención de la muestra

Como se dijo, existen situaciones en que es conveniente tomar la muestra junto a la cama del enfermo, como en el caso de los hemocultivos y líquido cefalorraquídeo (LCR); en otras es preferible realizarla en el laboratorio y si no es posible, remitirla en forma inmediata, como en el caso de exudados genitales que requieren una observación en fresco al microscopio (*chancro sifilítico*, *Trichomonas vaginalis*) y siembra inmediata (*Chlamydia*, *Ureaplasma*). En otras situaciones, como en el caso de una muestra de tejidos profundos o biopsia, se debe tomar en el quirófano, durante el procedimiento quirúrgico efectuado.

El procedimiento de obtención de la muestra requiere una perfecta antisepsia de la piel con alcohol o iodopovidona. La **antisepsia de la piel** es un paso fundamental, ya que **permite el arrastre mecánico y la eliminación de los gérmenes que son flora normal de la piel y de aquellos que transitoriamente pudieran colonizarla.**

Las muestras siempre deben ser extraídas con elementos de protección de barrera: guantes, barbijo, camisolín, protección ocular.

Todos los elementos utilizados para la recolección de muestras destinadas a estudios microbiológicos deben ser estériles: jeringas y agujas, recipientes de boca ancha, tubos, etc. (Figura 3).

La piel se debe limpiar en forma centrífuga, por lo menos 2 veces. El yodo debe estar no menos de un minuto sobre la piel. Si el paciente es alérgico o presenta sensibilidad al yodo, luego de punzar, limpiar la zona con alcohol. La muestra debe tomarse en el sitio exacto de la lesión con las máximas condiciones de asepsia que eviten la contaminación con microorganismos exógenos.

Es fundamental que la muestra nunca se ponga en contacto con antisépticos o desinfectantes porque pueden provocar la lisis de los microorganismos, que la toma sea lo más precoz posible y que se prefieran siempre los fluidos purulentos frescos líquidos (recogidos por aspiración directa con jeringa) o tejidos sospechosos, a las muestras tomadas con hisopos o torundas con algodón. Se tomarán cantidades adecuadas de la muestra para facilitar su procesamiento.

Si se pretende investigar gérmenes anaerobios, obtener una columna de material en la jeringa sin aire o luego de eliminarlo y posteriormente pinchar la aguja con un tapón de goma. Mantener a temperatura ambiente el menor tiempo posible y remitir inmediatamente al laboratorio.

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 la orden de estudio microbiológico.



Figura 3. Recipientes estériles para toma de muestras microbiológicas

Transporte de la muestra

Cualquier tipo de muestra debe ser considerada **potencialmente infectiva**, hasta que se demuestre lo contrario y **siempre se deben seguir las normas existentes para el transporte de productos biológicos**.

Todas las muestras deberán ser **enviadas lo más rápidamente posible al laboratorio**; idealmente, las muestras deben ser procesadas dentro de las dos primeras horas de su recolección. La mayoría de las bacterias resisten bien las temperaturas bajas, por lo que los productos pueden mantenerse en la heladera unas horas. Sin embargo, hay fluidos biológicos como el LCR (*N. meningitidis* es muy sensible al frío), sangre, que no deben ser refrigerados. 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, utilizar un doble recipiente, o utilizar contenedores apropiados para el transporte de muestras biológicas (Figura 4). Siempre deberá aclararse el tipo de muestra que se envía, la identidad de la persona a quien pertenece dicha muestra y el Servicio o persona que solicita el estudio.



Figura 4. Modelos de contenedores de transporte para muestras biológicas

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 de 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 preservar la viabilidad bacteriana hasta 24 horas a temperatura ambiente, deberán enviarse al laboratorio lo más rápidamente posible.

CRITERIOS GENERALES DE RECHAZO PARA PROCESAR LAS MUESTRAS

1. No se procesarán las muestras que no estén rotuladas o adecuadamente rotuladas, mal identificadas o que no coincidan con la orden de solicitud médica.
2. No se procesarán muestras que se remitan en un envase inadecuado.
3. Serán rechazadas las muestras derramadas, destapadas, mal conservadas o con elementos punzantes.

TOMA DE LAS PRINCIPALES MUESTRAS CLÍNICAS PARA ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

SANGRE

BACTERIEMIA

El cultivo de la sangre para la detección de microorganismos se denomina **hemocultivo**. La detección de la bacteriemia y la fungemia constituye una de las prioridades del Servicio de Microbiología Clínica, dada su importancia diagnóstica y pronóstica, ya que se asocian con una elevada mortalidad que oscila entre el 20 y el 50%.

Se define como **bacteriemia** la presencia de bacterias en la sangre que se pone de manifiesto por el aislamiento de éstas en los hemocultivos. El término **fungemia** se utiliza para designar la presencia de hongos en la sangre. **Sepsis** es una expresión utilizada para denominar el síndrome clínico con el que habitualmente se manifiestan las bacteriemias o las fungemias, independientemente del resultado de los hemocultivos.

La bacteriemia y la fungemia son complicaciones graves de las infecciones bacterianas y fúngicas, respectivamente, y tienen una metodología diagnóstica muy similar por lo que se describirán de forma conjunta. Ambas se producen cuando los microorganismos invaden el torrente sanguíneo y se multiplican a un ritmo que supera la capacidad del sistema reticuloendotelial para eliminarlos. Esta invasión puede producirse desde un foco infeccioso extravascular, a través de los capilares sanguíneos o de los vasos linfáticos, o desde un foco intravascular (endocarditis, infección de catéteres intravenosos o arteriales).

Las bacteriemias pueden ser transitorias, continuas o intermitentes según la forma en que aparecen los microorganismos en la sangre, pero esta distinción es difícil de establecer y poco práctica desde el punto de vista microbiológico.

El término "**bacteriemia intratratamiento**" se emplea cuando ésta se presenta en un paciente que está recibiendo terapia sistémica con antimicrobianos a los cuales es sensible el microorganismo aislado. Su presencia puede ser debida a una concentración inadecuada del antimicrobiano en la sangre, a un incorrecto drenaje del foco de infección, a la presencia de endocarditis o infección endovascular, al deterioro de las defensas del huésped, al desarrollo de resistencia al tratamiento antimicrobiano, etc.

La incidencia de la bacteriemia depende del tipo de población estudiada (5-30‰ casos de pacientes hospitalizados) y puede presentarse a cualquier edad, sobre todo en pacientes con graves enfermedades de base y en los sometidos a maniobras que alteran los mecanismos locales y generales de defensa frente a la infección. Los focos más frecuentes de bacteriemia son el tracto genitourinario, los abscesos, las heridas quirúrgicas, la vía biliar y los catéteres intravasculares, aunque hasta en un 25% de los casos su foco originario es desconocido.

La mayoría de los microorganismos son capaces de invadir el torrente circulatorio. En la actualidad los cocos grampositivos, especialmente del género *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*, igualan o superan en frecuencia a los microorganismos gramnegativos. Ello es debido a múltiples causas, entre las que destacan la utilización de antibióticos de amplio espectro, el uso generalizado de catéteres intravasculares, el empleo de métodos de diagnóstico invasores, y además, la gran avidez de estos gérmenes por la colonización del endotelio vascular. Por lo tanto, la presencia de cocos grampositivos

pertenecientes a estos 3 géneros en 2 hemocultivos debe motivar la realización de estudios para descartar la infección endovascular (endocarditis u otros focos potenciales).

Por otra parte, el aumento de pacientes inmunodeprimidos con tratamientos antineoplásicos o con infección por el VIH/SIDA ha propiciado la aparición de bacteriemias por agentes que en el pasado eran causa muy infrecuente de infección.

El diagnóstico definitivo de la bacteriemia se establece cuando se aísla el microorganismo causal en la sangre del enfermo mediante el cultivo de ésta.

El aislamiento del agente responsable es trascendente, además, para conocer su sensibilidad a los ATM e instaurar el tratamiento o las modificaciones necesarias a la terapia empírica ya establecida.

En ocasiones puede orientar el diagnóstico de enfermedades como la neoplasia de colon (asociada a bacteriemia por *Streptococcus bovis*), endocarditis (*Streptococcus* del grupo *viridans*) e incluso infección por el VIH (*Salmonella*, *Enterococcus*).

INDICACIONES DE LOS HEMOCULTIVOS

De forma general, los cultivos deben realizarse,

1. **Antes de la administración de la terapia antimicrobiana sistémica**
2. **Siempre que exista sospecha clínica de sepsis, infecciones localizadas que puedan complicarse con bacteriemia:** meningitis, osteomielitis, pielonefritis, infección intraabdominal, artritis, infecciones graves de la piel y tejidos blandos, neumonía, endocarditis.
3. **Ante el diagnóstico clínico de fiebre de origen desconocido** (absceso oculto, fiebre tifoidea, brucelosis, etc.)
4. Cuando el paciente tiene **leucopenia, leucocitosis o trombocitopenia** no relacionado con procesos hematológicos

Los signos clínicos que nos orientan son la presencia de escalofríos, leucocitosis o granulocitopenia, deterioro uni o multiorgánico de etiología no aclarada, shock, compromiso hemodinámico de causa desconocida y combinaciones de algunos de ellos.

La extracción de hemocultivos está indicada, asimismo, en niños pequeños o ancianos con disminución súbita de la vitalidad, ya que en estas poblaciones pueden no presentarse los signos y síntomas típicos de la bacteriemia.

El cultivo de la sangre debe complementarse con el de otros fluidos biológicos, según la sospecha del foco clínico, como LCR, orina, muestras del tracto respiratorio inferior o líquido sinovial en pacientes con sospecha de meningitis, pielonefritis, neumonía o artritis séptica, respectivamente.

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE SANGRE

Cuando la muestra se obtiene adecuadamente la probabilidad de que el resultado de los hemocultivos positivos represente una bacteriemia verdadera, aumenta. **El momento óptimo para la extracción de hemocultivos es exactamente antes del inicio de los escalofríos.** Como este hecho es imposible de predecir con exactitud, se recomienda que la sangre para cultivo sea extraída **lo antes posible después del comienzo de la fiebre y los escalofríos**, o siempre que se sospeche una infección grave. No obstante, el momento de la extracción de la muestra de sangre es indiferente si la bacteriemia es continua, como en la

endocarditis u otras infecciones intravasculares y en las primeras semanas de la fiebre tifoidea o la brucelosis.

No ocurre lo mismo en la bacteriemia intermitente, que se presenta en diferentes infecciones, y en la bacteriemia transitoria, generalmente autolimitada y benigna, que suele producirse después de manipulaciones en superficies mucosas no estériles (procedimientos dentales o urológicos, endoscopias), en tejidos infectados (abscesos, forúnculos, celulitis) o en cirugía de áreas contaminadas. En ambos casos, que constituyen la mayoría de las bacteriemias, la muestra de sangre debe extraerse lo más cerca posible del pico febril.

a. Venopunción

La muestra de sangre para hemocultivo debe extraerse de una vena, utilizándose generalmente las del antebrazo. La utilización de sangre arterial no ha demostrado ventajas sobre la venosa, aunque cuando no haya venas accesibles puede realizarse la extracción de sangre arterial. La extracción no debe realizarse a través de catéteres intravenosos o intaarteriales, salvo en los casos de sospecha de bacteriemia asociada a catéter.

Cada muestra de sangre se obtendrá de lugares de venopunción diferentes.

b. Asepsia de la piel

El principal problema para la interpretación correcta de los hemocultivos es su contaminación con la microbiota cutánea durante la extracción. Para evitarla debe prepararse antes meticulosamente la piel de la zona de extracción. Después de la palpación de la vena elegida para la punción se limpiará la zona con alcohol isopropílico o etílico al 70% durante 30 segundos. Se aplicará a continuación una solución yodada (tintura de yodo al 1-2% durante 30 segundos o povidona yodada al 10% durante 1 minuto) cubriendo un área circular de 2-4 cm de diámetro. Es importante dejar secar el compuesto yodado para que ejerza su acción oxidante y evitar tocar con los dedos el lugar de la venopunción, así como hablar o toser mientras se realiza la extracción. Se recomienda el uso de barbijo para realizar el procedimiento para evitar la contaminación de los hemocultivos con la flora nasal o respiratoria del extraccionista.

En pacientes alérgicos a los compuestos yodados se deben realizar dos limpiezas con alcohol isopropílico. Con una técnica aséptica correcta, el número de hemocultivos contaminados no debe exceder del 3%. En general, se consideran microorganismos contaminantes: *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Bacillus* spp., *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium* spp. y otros que forman parte de la microbiota de la piel, siempre que su presencia no se repita en más de una muestra por paciente. Por eso es fundamental la extracción del par de 2 hemocultivos como mínimo, dado que **los hemocultivos se consideran positivos cuando el mismo germen se aísla en las 2 muestras.**

c. Extracción de la muestra de sangre

Antes de proceder a la extracción se limpiarán los tapones de los frascos de hemocultivo con un antiséptico que se dejará secar para evitar su entrada en el interior del frasco al inocular la sangre. Se ha demostrado que la introducción de pequeñas cantidades de antiséptico en el frasco puede inhibir el crecimiento bacteriano. A continuación se insertará la aguja en la vena elegida y se extraerá el volumen de sangre sin utilizar anticoagulante. No debe ponerse algodón u otro material no estéril sobre la aguja en el momento de sacarla de la vena. Los frascos de hemocultivo deben inocularse rápidamente para evitar la coagulación de la sangre en la jeringa, atravesándolos con la aguja en posición vertical. El cambio de agujas no disminuye la tasa de contaminación y aumenta el riesgo de pinchazo accidental. Se inoculará en primer lugar el frasco anaerobio, evitando la entrada de aire, seguido del aerobio, invirtiéndolos varias veces para mezclar la sangre y el medio de cultivo.

d. Número e intervalo de las extracciones

Se considera una extracción para hemocultivo a la sangre extraída de una única venopunción, independientemente de los frascos en los que sea inoculada, habitualmente dos (aerobio y anaerobio). **El número de extracciones considerado óptimo para la documentación de un episodio de bacteriemia es de 2 a 3, utilizando siempre lugares diferentes de venopunción.** De esta manera logran detectarse más del 95% de las bacteriemias. Un mayor número de extracciones es desaconsejable desde el punto de vista coste/beneficio e incrementa innecesariamente el trabajo del laboratorio. No obstante, en los pacientes con sospecha de endocarditis sobre prótesis, donde puede ser difícil interpretar el aislamiento repetido de *Staphylococcus* coagulasa negativa, o en casos de endocarditis con hemocultivos inicialmente negativos que pueden ser debidos a microorganismos de difícil crecimiento, puede ser útil la disponibilidad de un número mayor de extracciones.

La extracción debe realizarse lo antes posible después de la aparición de los síntomas (fiebre, escalofríos) teniendo en cuenta que las bacterias son eliminadas rápidamente de la sangre por las células del sistema reticuloendotelial. Por esta misma razón **no se recomiendan extracciones separadas por periodos de tiempo concretos**, al contrario, un estudio ha demostrado que **se obtienen similares resultados cuando se extraen los hemocultivos simultáneamente** que cuando se extraen separados por periodos de tiempo arbitrarios durante 24 horas. Siempre que sea posible, **las extracciones deben realizarse antes de la administración de ATM.**

e. Volumen y dilución de la sangre

De todas las variables que influyen en el aislamiento de una bacteria u hongo en un hemocultivo, el volumen de sangre cultivada es la más importante debido al bajo número de microorganismos presentes en la mayoría de las bacteriemias.

La cantidad de sangre a introducir en cada frasco viene determinada por el modelo utilizado en cada hospital, entre **10-15 mL por toma en adultos y 1- 5 mL en neonatos y 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 neonatos y niños, la bacteriemia de bajo nivel es muy frecuente, por lo que el volumen de sangre para detectarla debe ser proporcional al peso (al volumen de sangre total) y a la edad. Se recomienda cultivar un volumen de sangre aproximadamente del 4,5% del volumen total de sangre del paciente. La dilución de la sangre en el medio de cultivo es necesaria para neutralizar sus propiedades bactericidas. En los pacientes en tratamiento con antimicrobianos esta dilución permite, además, conseguir que la presencia de éstos se reduzca hasta alcanzar concentraciones subinhibitorias.

TRANSPORTE DE LA MUESTRA DE SANGRE AL LABORATORIO

Cada frasco de hemocultivo con la sangre inoculada debe ser debidamente identificado con los datos del paciente y **remitidos al laboratorio junto con la orden de solicitud de estudio microbiológico completa y con letra legible.** Si los hemocultivos se extraen en el Servicio de Urgencias y el paciente es dado de alta, se anotará el número de teléfono donde informar los resultados preliminares de los hemocultivos en caso de positividad.

Los frascos, con su debida identificación, deben transportarse al laboratorio inmediatamente. Sólo deben mantenerse a temperatura ambiente durante cortos periodos de tiempo para no afectar la posterior recuperación de los microorganismos. Si no pueden ser enviados inmediatamente al laboratorio se incubarán en una **estufa a 35-37°C** hasta ese momento (Figura 5). El tiempo máximo que pueden permanecer a temperatura ambiente

antes de ser introducirlos en el sistema nunca debe superar las 18 horas. Los hemocultivos nunca deben ser refrigerados.



Figura 5. Estufa para cultivos microbiológicos

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Un hemocultivo puede ser positivo sin que ello represente un episodio verdadero de bacteriemia.

Causas de contaminación de hemocultivos:

- Contaminación con la microbiota del paciente o del personal de salud al extraer la sangre al realizar la extracción.
- Manipulación de los hemocultivos, durante su procesamiento en el laboratorio.

Si la técnica de extracción, transporte y procesamiento es correcta, no debe contaminarse más de un 3% de todas las extracciones.

Denominamos “bacteriemia verdadera” a aquella producida por microorganismos realmente presentes en la sangre de los pacientes y falsas bacteriemias a las causadas por una contaminación accidental de los medios de cultivo. La distinción entre la verdadera bacteriemia y la que no lo es constituye un asunto de la máxima importancia y trascendencia para el paciente.

Uno de los datos orientativos más importante lo constituye la **propia identidad de los microorganismos aislados**. Microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y otras enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae* son responsables de bacteriemias verdaderas en más del 90% de los casos. Por el contrario, **es dudoso el papel que representan los microorganismos que forman parte de la microbiota del paciente** como *Staphylococcus* coagulasa negativos, *Streptococcus* del grupo *viridans*, *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium acnes*, *Bacillus*

spp. y algunas especies de *Clostridium* que, en conjunto, suponen menos del 5% de las bacteriemias verdaderas. Sin embargo, algunos de estos microorganismos pueden ser responsables de auténticas bacteriemias en algunas situaciones y por tanto, su identidad no es un dato suficiente para establecer el criterio de significación clínica.

Es preciso recurrir al número de hemocultivos en que se repite el aislado y en este sentido, sin que el dato sea definitivo, es indudable que **la repetición de la misma bacteria en más de una extracción (suponiendo que todas las extracciones no se han realizado desde una misma vía contaminada), indica generalmente que se trata de una bacteriemia verdadera. Por el contrario, la presencia de un solo hemocultivo positivo de extracciones seriadas en un corto período de tiempo sugiere una contaminación.**

En la mayoría de las ocasiones, sin embargo, el laboratorio no dispone de elementos suficientes para establecer con seguridad la significación de la bacteriemia. El microbiólogo debe compartir la información que posee con el clínico responsable del paciente para, junto con los datos clínicos de éste, valorar conjuntamente los resultados obtenidos.

PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE LOS HEMOCULTIVOS

A. Material necesario

- 2 frascos de hemocultivo (Figura 6)
- Lazo de goma
- Compresa estéril
- Jeringas de 10, 5 y 1 mL y agujas de punción intravenosa 50/8 o mariposa
- Gasas estériles
- Guantes de látex estériles, barbijo y antiparras (recomendadas para evitar un posible contacto ocular por salpicadura)
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%
- Clorhexidina acuosa al 2 % o Clorhexidina en alcohol 70%.
- Tela adhesiva
- Descartador de material corto punzante



Figura 6. Frascos de hemocultivo (método automatizado)

B. Pasos para la obtención de la muestra

1. Reunir el material necesario.
2. Lavado antiséptico de las manos.
3. Preparar el material sobre la compresa estéril.
4. Seleccionar el sitio de venopunción para la toma de la muestra.
5. Retirar los tapones externos de los frascos y desinfectarlos con gasa embebida en alcohol al 70% dejándolos secar 1 minuto.
6. Colocar el lazo de goma en el brazo del paciente.
7. Realizar nueva higiene de las manos con gel alcohólico.
8. Colocarse los guantes estériles manteniendo la técnica aséptica.
9. Realizar la antisepsia de una zona de 10 cm de diámetro de la piel con clorhexidina al 2% mediante frotado suave. Se comenzará por el centro y se irán haciendo círculos concéntricos hacia el exterior, dejando actuar 30 segundos.
10. Realizar la venopunción evitando tocar o palpar el sitio de punción. Debe utilizarse una vena distinta para cada extracción.
11. Extraer el volumen de sangre adecuado e introducir la sangre en los frascos evitando que entre aire en el frasco para cultivo en anaerobiosis. Mover suavemente los frascos para que la sangre y el medio de cultivo se mezclen.
12. Introducir los frascos en estufa a 37°C.
13. Cambiar los guantes manteniendo la técnica aséptica y repetir el mismo procedimiento con la segunda venopunción.
14. Descartar adecuadamente el material cortopunzante.
15. Rotular los frascos: cada frasco debe estar identificado y no debe taparse el código de barras ni la base del frasco.
16. Pegar el código de barra de cada uno de los frascos en la orden médica.
17. Remitir las muestras de hemocultivos rápidamente al laboratorio de Microbiología, con la orden correspondiente.

PUNTA DE CATÉTERES INTRAVASCULARES

Material necesario

- Guantes de goma estériles.
- Gasas estériles.
- Pinzas y tijeras estériles.
- Contenedor de boca ancha estéril con tapa de rosca.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Povidona yodada al 10%.

Obtención de la muestra

1. Desinfectar con alcohol una zona de piel de unos 10 cm de diámetro alrededor de la entrada del catéter.
2. Repetir la misma operación con la povidona yodada, dejando que se seque durante un minuto.
3. Retirar el catéter con la máxima asepsia.
4. Utilizando las pinzas y las tijeras estériles, cortar 3 a 4 cm de la porción más distal del catéter intravascular.
5. Introducir el segmento de catéter en un recipiente estéril.

Transporte

La muestra debe remitirse al laboratorio inmediatamente. Si no se puede, conservar hasta el día siguiente, a temperatura ambiente.

ORINA

1. Orina obtenida por la técnica del chorro medio

Condiciones previas

La primera orina de la mañana es la muestra más significativa porque contiene el mayor número de bacterias infectantes debido a la inactividad miccional del paciente durante la noche. Si esto no es posible, el paciente deberá tener como mínimo cuatro horas de retención. Se debe limitar la ingesta excesiva de líquido y suprimir antes toda medicación diurética. No debe administrarse antibióticos ni vitamínicos 72 horas antes de la recolección. Se recomienda obtener un volumen mínimo de 10 mL de orina.

Material necesario

- Toalla limpia
- Jabón neutro
- Recipiente de boca ancha con tapa a rosca hermético y estéril
- Bolsa de plástico o colector estéril para niños pequeños que no controlan la micción.

Recolección

- Técnica para mujeres
 - a) Se lavará las manos cuidadosamente con agua y jabón, las enjuagará con agua y las secará con una toalla limpia
 - b) Proceder al lavado de la zona genitourinaria y vulva, enjabonando de adelante hacia atrás.
 - c) Enjuagar la región con abundante agua hervida y enfriada, o solución fisiológica estéril. No usar jabones desinfectantes.
 - d) Repetir el proceso 2 veces.
 - e) Secar con una toalla limpia.
 - f) En las mujeres adultas, colocar un tapón vaginal, para evitar la contaminación con la flora de vagina. Se separarán los labios mayores y menores, y los mantendrá separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.
 - g) Se indicará a la paciente que orine, desechando los 20-25 primeros mL, tras lo cual y sin interrumpir la micción, se recogerá el resto de la micción (chorro medio) en un frasco estéril, rotulado, de boca ancha.
 - h) El frasco debe sujetarse para que no tome contacto con pierna, vulva o ropa del paciente, con el fin de evitar su contaminación.
- Los dedos no deben tocar el borde del frasco o su superficie interior.

Técnica para hombres

- a) Lavado de las manos con agua y jabón.
- b) Se deberá retraer completamente el prepucio, que se mantendrá así en todo momento, hasta que se haya recogido la orina.
- c) Lavar el glande con agua y jabón neutro.
- d) Eliminar los restos de jabón enjuagándolo con agua hervida y enfriada.
- e) Secar con toalla limpia.
- f) Se pedirá al paciente que orine desechando los primeros 20-25 mL para, sin interrumpir la micción, recogerse el resto de la orina en el recipiente estéril.

Técnica para niños

- a) En niños y niñas mayores la orina se recoge de forma similar a los adultos.

- b) En niños y niñas más pequeños, la orina se puede recoger al acecho, en frasco estéril o en colectores o bolsas estériles especialmente diseñadas para ellos (figura 7), 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.



Figura 7. Colector pediátrico de orina

Transporte y conservación

La orina recolectada debe llegar al laboratorio en un plazo máximo de 1 hora; si esto no es posible, debe ser refrigerada en la heladera (4 - 8° C) hasta el momento de su remisión al laboratorio. Si la muestra debe transportarse a distancia, puede disponerse en un recipiente de material aislante con hielo. La muestra puede permanecer hasta 48 horas en refrigeración, antes de procesarse. Bajo ningún concepto se procesarán puntas de sonda vesical por dar resultados contradictorios.

Observaciones

En los niños sin control de esfínteres, la muestra también puede tomarse al acecho, previa higiene de la zona, como se indicó antes, en un frasco estéril. Este método de recolección es preferible a la utilización de colectores pediátricos ya que estos dan un elevado grado de contaminación de la muestra.

2. Orina obtenida por punción suprapúbica o punción vesical

Es la orina obtenida por punción suprapúbica o por citoscopia. 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 una

aguja larga (calibre 19) se aspira el contenido vesical (Figura 8). El volumen mínimo a recolectar es de 1 mL de orina.

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).

La punción suprapúbica está indicada en pacientes con sospecha de infección urinaria por microorganismos anaerobios, en recién nacidos en los cuales la cateterización es dificultosa o está contraindicada, en pacientes que no controlan esfínteres o en pacientes con evidencia de infección urinaria, pero cuyos recuentos en el urocultivo por la técnica del chorro medio o por punción de sonda son bajos y de dudosa interpretación.

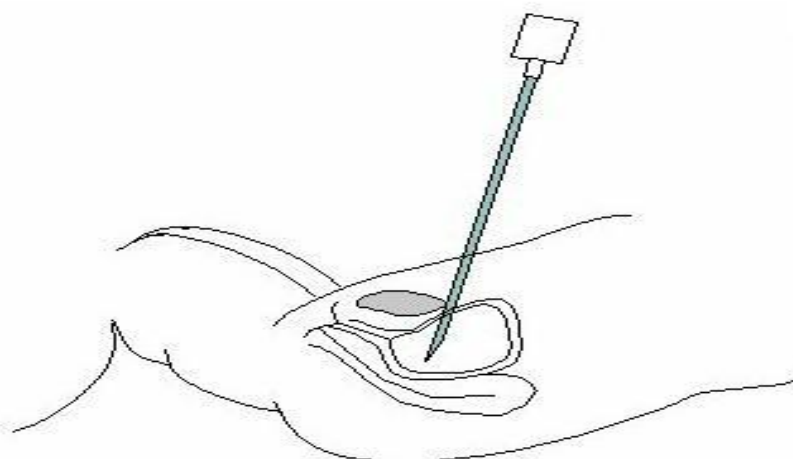


Figura 8. Punción suprapúbica o vesical

3. Orina obtenida por punción de sonda vesical

Material necesario:

- Gasas estériles
- Alcohol al 70% o solución iodada
- Jeringa o aguja estéril
- Recipiente estéril

Procedimiento para obtener la muestra por punción de sonda vesical

- Previo a la toma de muestra, se debe cambiar la sonda por una nueva estéril.
- Clampear la sonda en su extremo distal y esperar a que se llene de orina.
- Hacer una perfecta decontaminación (con gasa humedecida con alcohol o iodo povidona) de la sonda, en la proximidad del cono de conexión; dejar secar unos minutos.
- Luego punzar con jeringa y aguja estéril en la zona desinfectada y aspirar entre 5 -10 mL; colocar la orina en frasco estéril y remitir inmediatamente al laboratorio (Figura 9).

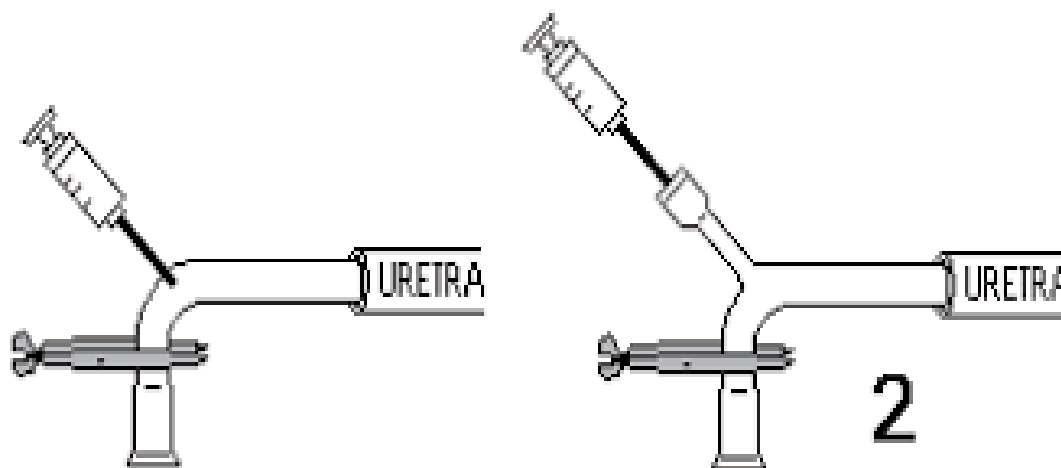


Figura 9. Clampeo y punción de sonda vesical para obtención de muestra de orina.

Se considera significativo de infección del tracto urinario, el recuento $>10^5$ unidades formadoras de colonias bacterianas por mililitro de orina (UFC/mL), de una sola especie bacteriana.

Valores $< \text{o} = 10^4$ UFC/mL, o el hallazgo de más de una colonia de distintas especies bacterianas, deben considerarse como muestra contaminada.

4. Orina obtenida por nefrostomía

Si la nefrostomía está drenada con un sistema de catéter y bolsa, se procederá como en los pacientes sondados. Si se trata de orina recogida por punción piélica o durante el acto quirúrgico de la nefrostomía, se procederá como para la obtención de orina por punción suprapúbica. Se debe especificar en la orden de solicitud del estudio que se trata de orina obtenida por nefrostomía.

LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

La obtención de líquido cefalorraquídeo (LCR) se realiza ante la sospecha de meningitis y **siempre antes de instaurar cualquier terapéutica antibiótica**.

Debe realizarse preferentemente en el quirófano y el profesional que tomará la muestra debe vestirse con camisolín y guantes estériles, cofia, barbijo y antiparras, ya que el riesgo de salpicaduras al realizar la punción es muy elevado, debido a que puede haber presencia de hipertensión endocraneana.

La recolección del material debe realizarla el médico, mediante la punción lumbar del 4° o 5° espacio intervertebral (Figura 10), con cuidadosa técnica aséptica y realizando la descontaminación y **antisepsia de la piel en forma centrífuga y en 3 tiempos**.

La muestra se recolectará en 2 tubos estériles, uno destinado al examen cito-físico-químico y otro para el estudio bacteriológico. Puede extraerse material para un 3er tubo, en el caso de que se requieran estudios adicionales para otras investigaciones, como por ejemplo, estudio virológico, micológico, micobacteriológico, anatomopatológico o molecular.

Se deben remitir aproximadamente 1,5 - 2 mL en cada tubo (Figura 11).

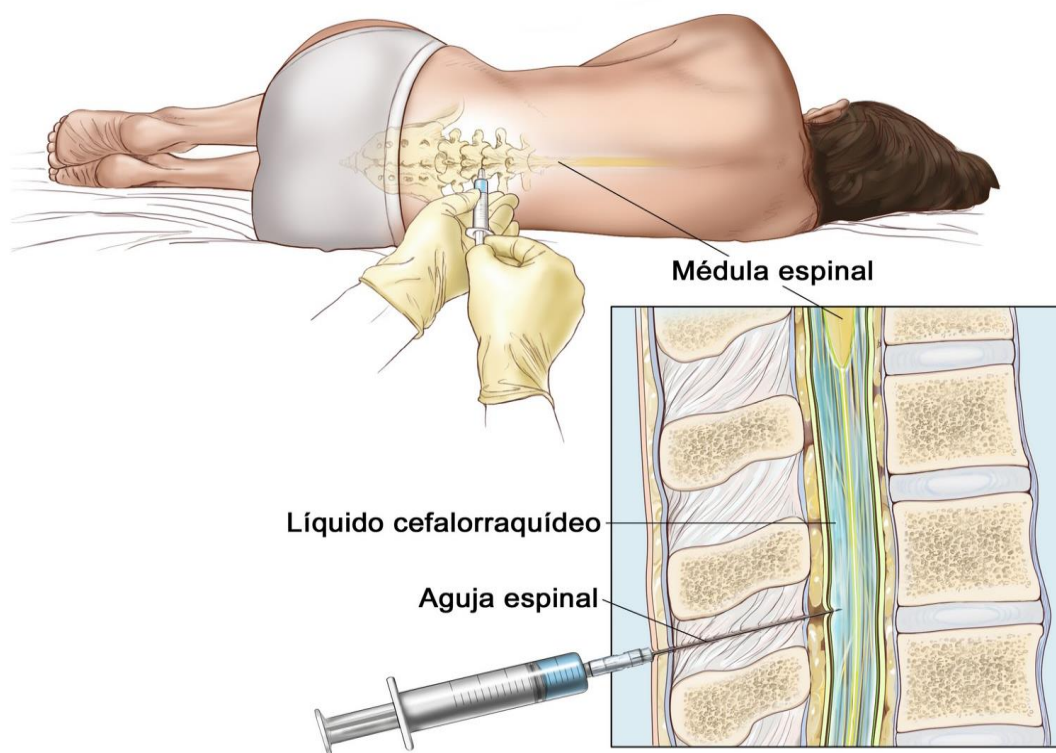


Figura 10. Punción lumbar para obtención de líquido cefalorraquídeo
(Tomado de T. Winslow)

Las muestras deben enviarse de inmediato al laboratorio, donde serán procesadas en el momento o, en su defecto, mantenidas a 37° C, durante el menor tiempo posible.

NUNCA REFRIGERAR LA MUESTRA PARA ESTUDIO BACTERIOLÓGICO, pues se puede afectar la viabilidad de *N. meningitidis* y *H. influenzae*. Las muestras de LCR destinadas a otros estudios que no serán procesadas inmediatamente, pueden refrigerarse.



Figura 11. Tubos para recolección de líquido cefalorraquídeo

SECRECIÓN DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

ESPUTO

Es conveniente recolectar la primera expectoración de la mañana porque contiene mayor cantidad de gérmenes patógenos debido a que el paciente, generalmente, no expectora durante la noche. La muestra se debe tomar en ayunas, previo cepillado de dientes y gargarismos con agua oxigenada de 10 volúmenes diluida (una cucharada en medio vaso de agua) o solución de bicarbonato de sodio (una cucharadita en medio vaso de agua).

Tomar la muestra en frasco estéril de boca ancha (figura 12), luego de toser 2 ó 3 veces para favorecer la expectoración, que debe ser lo más profunda posible. Si la muestra es escasa pueden hacerse nebulizaciones con solución fisiológica estéril (15 mL durante 10 minutos). El volumen adecuado de la muestra es de 2 a 10 mL.



Figura 12. Frascos para recolección de esputo

Para la realización de la baciloscopía para gérmenes ácido alcohol resistentes (BAAR) y cultivo, que se utiliza para el diagnóstico de tuberculosis, deben remitirse no menos de 2 muestras de esputo, especificando que se desea realizar la tinción de Ziehl Neelsen y eventualmente el cultivo para micobacterias, ya que si no se aclara, el bacteriólogo solo hará tinción de Gram y cultivo para gérmenes comunes.

La muestra de esputo deberá ser enviada inmediatamente al laboratorio (antes de las dos horas de colectada). Si no es posible, conservarla en heladera a 4° C.

ASPIRADO TRAQUEOBRONQUIAL SIMPLE

Se utiliza en niños que no expectoran. De valor análogo al esputo por su contaminación con la flora orofaríngea.

Se obtiene mediante una sonda de aspiración; se debe recolectar un volumen de muestra de 2 a 10 mL, la cual se colocará en un tubo estéril.

Se debe remitir al laboratorio dentro de las 2 horas posteriores a su extracción; de no ser posible se debe conservar en heladera a 4 - 8° C.

JUGO GÁSTRICO

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

Se suele utilizar cuando la muestra presenta un número muy pequeño de microorganismos especialmente resistentes al pH gástrico, como las micobacterias.

Se deben obtener tres muestras, obtenidas por lavado gástrico, con un volumen mínimo de 5 mL en cada muestra.

LAVADO BRONCOALVEOLAR (BAL)

Consiste en la instilación y aspiración secuencial de solución fisiológica a través del broncoscopio enclavado en un subsegmento pulmonar (Figura 13). El líquido para el lavado se instila en alícuotas de 20 a 50 mL con una jeringa. Cada instilación se sigue inmediatamente de una aspiración manual mediante la propia jeringa o bien con aspiración mecánica suave (con una presión de 5 cm. de agua), modificable en cada enfermo para conseguir la máxima cantidad de fluido instilado sin que colapse excesivamente la vía aérea y provoque su fusión hemorrágica submucosa.

El líquido recuperado (alrededor de un 40-50% del volumen instilado) suele ser traslúcido u opalescente dependiendo de la cantidad de material celular y no celular en suspensión. En los casos de hemorragia alveolar difusa, es típico el aspecto rosado o marronáceo, más intenso en las últimas alícuotas recuperadas. En pacientes pediátricos, el volumen final no supera los 10 mL (miniBAL).

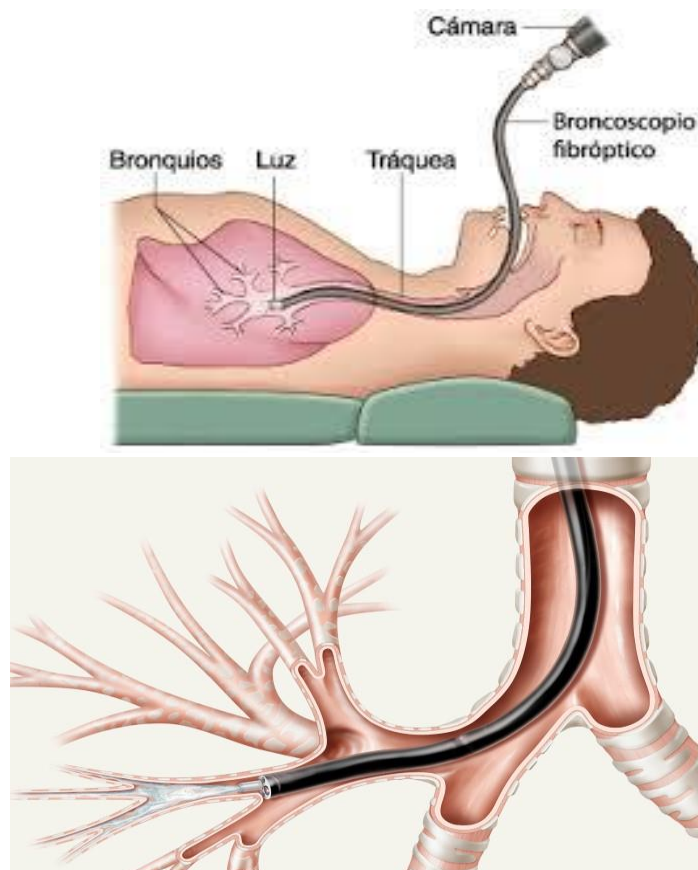


Figura 13. Lavado bronquioalveolar

La primera alícuota obtenida se considera representativa de la celularidad de vía aérea (muestra bronquial) y debe separarse del resto de alícuotas (muestra alveolar). La segunda o tercera porción son las ideales para realizar cultivos cuantitativos. Debe remitirse una porción al laboratorio de anatomía patológica para estudios histopatológicos.

El fluido debe verterse en frascos de plástico o vidrio siliconado para retardar la adherencia de las células a la pared y ha de ser mantenido a 4° C hasta su estudio, el cual no debe diferirse más de dos horas.

Si se requiere el transporte de las muestras a otro centro y por tanto se va a demorar su estudio, es útil resuspender la muestra obtenida en tubos de 50 mL con solución buffer salina (solución de Hanks) y enviar en heladera con refrigerante.

Las variaciones en la técnica de obtención de muestras radican fundamentalmente en el volumen total instilado, el cual depende de la tolerancia del paciente y de la diversidad de estudios que se pretenda realizar.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El examen directo de la muestra debe tener un **porcentaje de células epiteliales escamosas <1%**, contando por lo menos **200-300 elementos** entre macrófagos, células epiteliales escamosas y neutrófilos; **si este porcentaje se supera se estaría en presencia de una muestra contaminada con secreciones respiratorias de vías superiores**, por lo tanto si bien se puede utilizar para diagnóstico de tuberculosis y micosis sistémicas, sería de pobre utilidad para el cultivo cuantitativo bacteriano. La presencia de células ciliadas bronquiales podría también ser tomada de acuerdo a algunos autores como otro marcador de contaminación. La observación de macrófagos es normal; si los mismos no se visualizan, en ausencia de neutrófilos, indicaría que es una muestra muy diluida o con bajo contenido de secreciones respiratorias. Los neutrófilos constituyen la respuesta del huésped a la infección; el hecho de no observarlos hace que la neumonía sea un proceso improbable en ese momento (en pacientes no neutropénicos) o por lo menos en el lugar donde se tomó la muestra. Por otra parte la presencia de los mismos no es específica de neumonía, puesto que como se mencionó anteriormente, podrían existir otras múltiples causas que expliquen su presencia. También es de utilidad evidenciar la presencia de **bacterias intracelulares** puesto que tienen una elevada correlación con infección, aunque no está claro cuál es el porcentaje de células fagocíticas con bacterias intracelulares que indican esta condición (rango 2-25%). Debemos recordar sin embargo que las bacterias capsuladas (Ej.: *S. pneumoniae*) son habitualmente extracelulares.

Para el diagnóstico de infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior, se realiza una *tinción de Gram* y un cultivo cuantitativo del líquido del BAL. Los aislamientos de 10.000 unidades formadoras de colonias por mililitro (10^4 ufc/mL) de un solo germen, se valoran como significativos. La presencia de 2 o más tipos de microorganismos, sugiere contaminación de la muestra.

Por otra parte, el hallazgo de bacterias intracelulares es muy indicativo de infección pulmonar. El porcentaje significativo de células con bacterias intracelulares oscila entre el 2 y el 10% según distintas experiencias (algunos autores consideran que porcentajes superiores al 2% son diagnósticos de infección pulmonar). Con el objetivo de obtener un fluido alveolar con menor riesgo de contaminación por las secreciones de las vías aéreas superiores existe la técnica de *lavado broncoalveolar protegido* (BAL-P). Este consiste en la instilación y la aspiración subsiguiente a través de un catéter especial provisto de un tapón

distal reabsorbible. Es de gran utilidad en la enfermedad infecciosa. La interpretación de la muestra de BAL se resume en la tabla 2.

Tabla 2. Muestra representativa de lavado bronquioalveolar

<i>Muestra representativa del BAL</i>	
<i>Células epiteliales escamosas</i>	<i><1%</i>
<i>Celularidad</i>	<i>Hasta 300 elementos</i>
<i>Cultivo cuantitativo</i>	<i>10⁴ ufc/mL</i>

LÍQUIDO PLEURAL

La pleura que rodea el pulmón consta de 2 hojas, pleura parietal y pleura visceral, entre las que existe un espacio virtual. Cuando entre las 2 hojas se acumula aire (neumotórax), líquido (derrame pleural) o ambos (hidroneumotórax), se interfiere la fisiología respiratoria normal. A medida que el aire o el líquido pleural se acumulan, el volumen pulmonar y la capacidad vital disminuyen. Si la cantidad de aire o gas es lo suficientemente grande, o si se acumula rápidamente, se puede desarrollar una insuficiencia respiratoria aguda.

El líquido pleural se extrae mediante un procedimiento denominado toracocentesis (TRC), el cual consiste en la punción puntual de la pared torácica para la retirada de líquido y/o aire del espacio pleural, mediante aguja fina hueca o catéter sobre aguja.

La TRC se puede realizar con dos fines:

- Para diagnóstico.
- TRC evacuadora o terapéutica: consistente en la retirada del aire y/o líquido pleural que suponen un riesgo para la vida.

En muchos procesos infecciosos que ocasionan derrame pleural, es necesario extraer líquido pleural para su estudio microbiológico.

Este procedimiento necesita de un médico experimentado y un asistente o colaborador. Para realizar la extracción de líquido pleural por TRC se le solicitará al paciente que se sienta en el borde de la cama y que apoye sus brazos sobre una mesa alta; esta posición facilita que los espacios intercostales se abran. A continuación se procederá de la siguiente forma:

1. Se realizará la percusión y auscultación de la pared posterior del tórax para ubicar la zona de matidez del hemitórax donde se visualizó el derrame pleural en la radiografía de tórax.
2. Se aconseja colocar un oxímetro en el dedo índice del paciente para controlar los valores vitales y la saturación de oxígeno.
3. Se selecciona el lugar de la punción: el mismo debe estar ubicado a 5 o 6 cm lateral a la columna vertebral, y entre 5 a 7 espacios intercostales; la punción se hará dejando 2 espacios intercostales por debajo del nivel de derrame visualizado en la radiografía de tórax (no se debe punzar por debajo de la 9na costilla).
4. Marcar el sitio de punción con un marcador. Se debe punzar sobre el borde superior de la costilla, para no lesionar el paquete vasculo nervioso que transcurre por los bordes inferiores de las costillas (Figura 14).

5. Realizar el lavado de manos antiséptico. Colocarse el equipo de protección personal: bata, guantes, gorro, mascarilla y antiparras.
6. Colocar el campo fenestrado sobre la espalda del paciente.
7. Realizar antisepsia de la zona de la punción con un antiséptico.
8. La punción se realiza con aguja hueca con un diámetro interno de 0,8 mm tipo 21G y jeringa de 50 mL.

El líquido pleural obtenido se coloca en tubos estériles, 1 para estudio microbiológico, otro para examen cito-físico-químico y un tercer tubo para estudio anatomopatológico, si correspondiese. Las muestras deben ser remitidas inmediatamente, o conservarse en heladera (4 - 8° C).

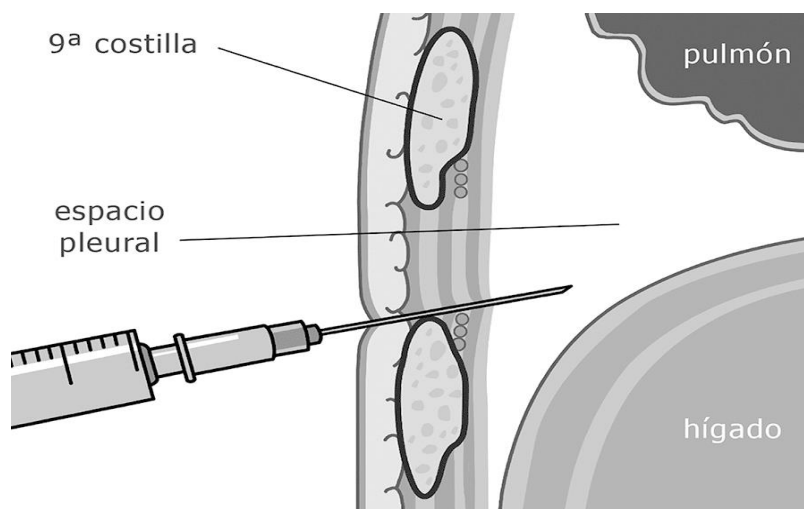


Figura 14. Punción pleural por toracocentesis

SECRECIÓN DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

EXUDADO DE FAUCES

Para realizar el hisopado de las fauces, se debe utilizar un hisopo estéril con medio de transporte adecuado (Figura 15). Se debe indicar al paciente que abra la boca, saque la lengua, con ayuda de un bajalenguas estéril y con buena iluminación queda expuesto el istmo de las fauces. En estas condiciones se frotarán con el hisopo estéril las fauces, amígdalas y toda área donde se observe inflamación, ulceración, exudación o pseudomembranas. No se debe tocar con el hisopo la lengua, carrillos, labios o saliva. El hisopo de algodón inhibe el crecimiento de algunos microorganismos (como *Bordetella pertussis*); en estos casos no se debe utilizar.

El hisopo se coloca en medio de transporte. La muestra puede permanecer a temperatura ambiente por 24 horas. La muestra se puede colocar por algunas horas en heladera.



Figura 15. Hisopo estéril con medio de transporte

SECRECIÓN O EXUDADO NASOFARÍNGEO

Esta muestra se toma para aislar *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae* (agente de la difteria) y *Neisseria meningitidis*.

Se coloca un espéculo nasal o cánula para introducir un hisopo estéril humedecido en solución fisiológica estéril. Se frota nasofaringe y se coloca en medio de transporte. La muestra debe mantenerse a temperatura ambiente hasta su envío inmediato al laboratorio.

SECRECIÓN DE FOSAS NASALES

En estas muestras se buscan portadores de *Staphylococcus aureus* o de *Streptococcus* spp. Se introduce un hisopo estéril humedecido en solución fisiológica estéril unos 2 cm en la fosa nasal, se rota suavemente y se coloca en el medio de transporte; hasta su procesamiento, la muestra puede dejarse a temperatura ambiente no más de 24 horas.

HERIDAS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS

Las heridas superficiales de úlcera de decúbito, de úlceras de miembros inferiores, abscesos abiertos, etc., suelen estar contaminadas con gérmenes de la piel y/o gérmenes ambientales que nada tienen que ver con la etiología del proceso infeccioso. Por ese motivo es imprescindible higienizar la zona de la toma de muestra, para decontaminar la superficie y márgenes de la herida con abundante solución fisiológica estéril por arrastre y con la ayuda de gasa estéril. También puede lavarse la zona con jabón y enjuagar con agua estéril.

La muestra debe ser tomada con jeringa y aguja estéril, de la zona más profunda de la herida. La toma de la muestra con hisopo estéril, debe reservarse solo para cuando no es posible realizar la punción-aspiración para obtener material de la herida; en estos casos, el hisopado deberá realizarse en el fondo de la herida.

- Una vez tomada la muestra se debe remitir la jeringa o el hisopo al laboratorio para su procesamiento. La muestra proveniente de heridas superficiales debe colocar en la heladera; la que proviene de heridas profundas debe dejarse a temperatura ambiente. Si se buscan microorganismos anaerobios, la muestra de elección es por punción-aspiración con jeringa (ver página 14, Toma de muestras para microorganismos anaerobios).

EXUDADO URETRAL

Para tomar la muestra de exudado uretral se procederá de la siguiente forma:

- Se debe recolectar el primer exudado matinal sin que el paciente haya orinado previamente.
- Se limpia la zona prepucial con gasa estéril humedecida en solución fisiológica estéril.
- Se introduce en el meato urinario un ansa estéril y con el material obtenido se realizan extendidos en portaobjetos que proveerá el laboratorio.
- Se repite la operación con un hisopo estéril humedecido en solución fisiológica estéril, rotándolo unos segundos; luego se coloca en medio de transporte o se siembra directamente en los medios de cultivo adecuados (Figura 16).

Cuando la secreción uretral es escasa o no perceptible se puede recolectar el primer chorro miccional. Previa higiene externa debe recoger en frasco estéril el primer chorro de orina (10 mL aproximadamente) y desechar el resto.

Estas muestras no se refrigeran y deben remitirse al laboratorio en forma inmediata.

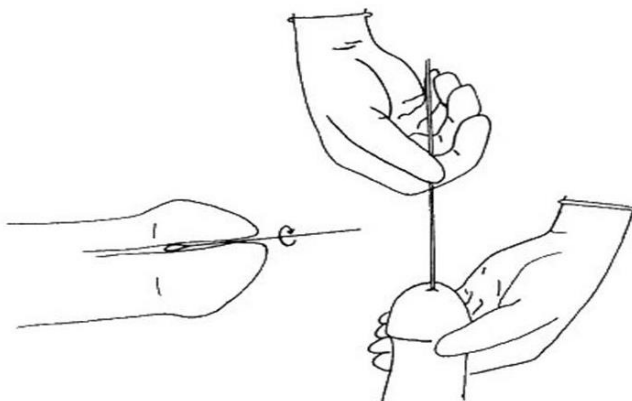


Figura 16. Toma de muestra de exudado uretral

EXUDADO O FLUJO VAGINAL

Para la toma de muestras de exudado o flujo vaginal destinadas a estudios microbiológicos, se procede de la siguiente forma,

- Se coloca a la paciente en posición ginecológica.
- Se pueden higienizar genitales externos con solución fisiológica.
- Se coloca el espéculo sin lubricantes ni desinfectantes, a lo sumo humedecido con agua tibia.
- Una vez visualizado el endocervix se toman dos muestras con hisopos estériles: una de fondo de saco vaginal y otra de endocervix, previa extracción del tapón mucoso con una gasa y pinza ginecológica estériles (Figura 17).

Ambas muestras se colocan en el medio de transporte adecuado y se envían al laboratorio a la mayor brevedad posible, donde se procesarán inmediatamente. Si esto no es factible, conservar a temperatura ambiente hasta el día siguiente.

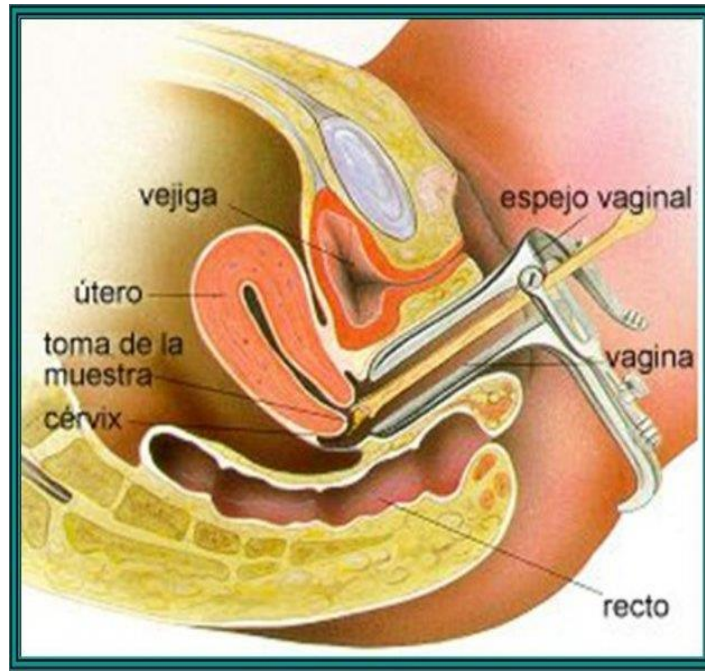


Figura 17. Toma de muestras ginecológicas.

HECES

Condiciones previas:

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

Para la realización de estudios parasitológicos debe realizarse además una dieta sin residuos los días previos a la toma de las muestras.

Material necesario:

- Recipiente de boca ancha para recoger las heces, tipo bacha o bacinilla. No es necesario que esté estéril, sólo es preciso que esté limpio y que no contenga 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 (Figura 18).
- 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 para parásitos.
- Espátula o cucharilla.

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.



Figura 18. Recipientes para toma de muestra de materia fecal

El volumen mínimo de muestra para heces formadas o pastosas es 1 ó 2 g. Para estudio virológico se deben añadir de 2 a 4 g más. Heces líquidas: entre 5 y 10 mL (Tabla 3).

Tabla 3. Volumen requerido de heces para estudio microbiológico

Muestra de heces	Volumen requerido
Formadas o pastosas	1 - 2 g
Líquidas	5 - 10 mL
Para estudio virológico	3 - 6 g

Puede solicitarse la observación de leucocitos en materia fecal, que estarán presentes en las muestras de diarreas inflamatorias o invasivas.

Si no se puede tomar la muestra tal como se indicó antes, se hará hisopado rectal con hisopo estéril y se colocará en un medio de 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.

Para el estudio de toxinas de *Clostridium difficile*, la muestra se puede mantener hasta 48 horas en refrigeración; si se congela a una temperatura de -20°C se puede mantener durante meses.

Las muestras para estudio virológico deben enviarse sin medio de cultivo, pues este diluye las partículas virales disminuyendo la sensibilidad del estudio a realizar.

Si su envío se retrasa por más de 24 horas es necesario utilizar un medio de transporte.

EXUDADOS OCULARES

Las muestras utilizadas para estudio microbiológico ocular son el hisopado conjuntival y el raspado conjuntival y corneal.

HISOPADO CONJUNTIVAL

Para tomar la muestra se utiliza un hisopo de Dacron sin conservantes.

Se debe humedecer el hisopo con solución fisiológica estéril y se procede a frotarlo sobre la conjuntiva ocular. Para la investigación de *Chlamydia trachomatis*, se debe realizar la eversión del párpado y frotar con un hisopo la superficie conjuntival.

Se deberá utilizar un hisopo para cada ojo.

Las muestras se deben enviar en menos de 2 horas, o conservar a temperatura ambiente hasta su remisión al laboratorio al día siguiente.

RASPADO CONJUNTIVAL Y CORNEAL

Para tomar la muestra se utiliza un hisopo de Dacron sin conservantes.

El material obtenido del raspado se colocará en un portaobjetos y en los medios de cultivo y en medios de cultivo adecuados, si corresponde. En un portaobjetos se pueden colocar varias improntas corneales.

Las muestras se deben enviar en menos de 2 horas, o conservar a temperatura ambiente hasta su remisión al laboratorio al día siguiente.

EXUDADO ÓTICO

La muestra de secreción o exudado de oído medio se debe obtener por timpanocentesis.

La muestra se enviará en un tubo esteril. Si se desea la investigación de anaerobios, se deberá inyectar una parte de la muestra en un frasco con medio de transporte para anaerobios. Se intentará obtener la mayor cantidad de exudado posible.

La muestra se debe remitir al laboratorio en un plazo máximo de 2 horas. Fuera de ese horario la muestra se conservará a temperatura ambiente hasta el día siguiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Guerrero Gómez C, Sánchez Carrillo C. **Recolección, transporte y conservación de las muestras. Procedimientos en Microbiología Clínica.** Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2003. ISBN: 84-609-2287-1.
2. Sánchez Romero MI, García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N. **Recogida, procesamiento y transporte en general de las muestras en el laboratorio de Microbiología.** Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2019. 37 (2): 127-34.
3. Alcalá L, Betriu C, García Sánchez JE, Reig M. **Bacterias Anaerobias. Procedimientos en Microbiología Clínica.** Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2004. ISBN: 84-609-2291-X.
4. Basualdo JA, Coto C, de Torres R. **Microbiología Biomédica.** 3ra ed. Buenos Aires: Editorial Atlante, 2022. En prensa.
5. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. **Microbiología Médica.** 9° ed. Barcelona. Elsevier, 2021.
6. Mandell GL, Dolin R, Blaser MJ. **Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica.** 9° ed, 2020, Saunders.
7. Tortora GJ, Case CL, Funke Berdell R. **Introducción a la Microbiología.** 12^{na} ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2017.
8. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC. **Koneman Diagnóstico Microbiológico.** Texto y atlas. 7^{ta} ed. México DF: Editorial Wolters-Kluwer, 2017.
9. Carroll KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S. **Microbiología Médica. Jawetz, Melnick y Adelberg.** 27° ed. México DF. McGraw-Hill/Interamericana Editores, 2016.