



# Guía para la toma de muestras destinadas a realizar estudios microbiológicos en pediatría (versión completa)

Laura Barrado Blanco a [laurajesus.barrado@salud.madrid.org], M.ª Teresa Pérez Pomata a, Yolanda Gil Romero a, M.ª Fátima López Fabal a, Raquel Andrade Lobato a, Marta López Lomba a, M.ª Teresa Durán Valle a servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario de Móstoles. Servicio Madrileño de Salud, Área 8. Madrid.

Fecha de actualización: 01/02/2021 (V.2.0/2021)

Cita sugerida: Barrado Blanco L, Pérez Pomata MT, Gil Romero Y, López Fabal MF, Andrade Lobato R, López Lomba M, Durán Valle MT. Guía para la toma de muestras destinadas a realizar estudios microbiológicos (v.2/2021). Guía-ABE. Infecciones en Pediatría. Guía rápida para la selección del tratamiento antimicrobiano empírico [en línea] [actualizado el 01/12/2020; consultado el dd/mm/aaaa]. Disponible en http://www.guia-abe.es

### Introducción / puntos clave

La calidad de la muestra tiene una gran repercusión sobre la fiabilidad de la información que el laboratorio de microbiología pueda proporcionar sobre ella. De una muestra mal tomada, escasa, incorrectamente transportada o conservada se obtendrán datos que podrían inducir a errores diagnósticos, interpretaciones inadecuadas, tratamientos y gastos innecesarios.

Esta guía pretende ser una referencia general facilitando información sobre los estudios más frecuentemente realizados. Sugerimos que, ante cualquier duda que no pueda ser resuelta consultando estas páginas, se acuda al Servicio de Microbiología correspondiente.

#### **Puntos clave**

- Las muestras deben ser correctamente identificadas. En las peticiones debe constar de forma clara todos aquellos datos que se consideren de utilidad para orientar el procesamiento microbiológico como los datos demográficos (sexo, edad, CIPA, país de nacimiento), clínicos (síntomas, estado de inmunodepresión, enfermedad de base), epidemiológicos (viajes recientes, contactos de riesgo, animales, etc.) de la muestra (tipo, localización, método empleado, etc.), el estudio solicitado (bacterias, hongos, micobacterias, virus y/o parásitos), aislamientos previos y los antimicrobianos que está recibiendo el paciente.
- La toma de muestra debe de realizarse en el sitio exacto de la lesión (IPPB, ITS, etc.), lo más precozmente posible y en máximas condiciones de asepsia, para evitar su contaminación. Esta debe ser recogida siempre que sea posible, antes de iniciar el tratamiento con antimicrobianos. Cuando esto no sea posible se obtendrá justo antes de administrar la siguiente dosis, o bien tras 48 horas de la retirada del mismo. En los estudios de detección de antígenos, anticuerpos y ácidos nucleicos, la influencia del tratamiento antimicrobiano previo es menos definitiva que en el caso del cultivo.
- Son preferibles las muestras tomadas por aspiración con jeringa y aguja que aquellas obtenidas mediante hisopos. Por ello, los hisopos deben ser usados solo en aquellas situaciones en el que la cuantía de la muestra sea escasa o cuando no sea posible por otro método (exudado de mucosas). En los envases de estos dispositivos consta la caducidad de los mismos, que debe ser comprobada antes de emplearlos. Los hisopos serán del tamaño y composición adecuados para la localización de la muestra.
- El recipiente debe ser estéril, estar cerrado herméticamente para evitar derrames, estar debidamente
  identificado y, en el caso de que se solicite la investigación de varios tipos de patógenos, repartir la muestra
  en tantos contenedores como tipos de estudio se soliciten, siempre que sea posible, como en el caso de
  que se requieran medios de transporte y conservación diferentes.
- Lo ideal es procesar las muestras en las dos horas siguientes a su recogida. Cuando esto no sea posible, es imprescindible mantenerlas en las condiciones (temperatura y medio de transporte) adecuadas para garantizar la viabilidad de los patógenos que se pretenda recuperar y limitar la proliferación de la flora acompañante (ver apartado transporte y conservación). Aún en condiciones óptimas de conservación, la viabilidad de los microorganismos es impredecible transcurridas más de 24 horas desde la toma de la muestra; por ello, cuando el procesamiento no sea posible en este plazo, se retrasará la recogida siempre que de la demora no derive perjuicio para el paciente ni para el rendimiento del estudio.
- En el caso de las muestras para investigación de virus (cultivo, detección de antígenos y ácidos nucleicos) en general se requieren muestras del órgano afectado, donde existe mayor replicación viral. Es recomendable obtener muestras en los tres primeros días del comienzo del cuadro clínico, por existir una mayor eliminación del virus. Dichas muestras deben transportarse y procesarse lo antes posible ya que la





viabilidad de los virus disminuye con el paso del tiempo, por lo que los especímenes de tejido y torundas deben de ir en medio de transporte de virus para evitar su desecación; y el resto de muestras (sangre, LCR, orina, heces, lavado broncoalveolar) deben enviarse sin medio de transporte. Estas muestras deben conservarse a una temperatura entre 2-8°C si no pueden ser transportadas al laboratorio inmediatamente.

Cambios más importantes respecto a la versión anterior: tras revisión bibliográfica, se han actualizado y ampliado las recomendaciones sobre cómo se debe realizar la recogida, transporte y conservación de las muestras ya incluidas en la anterior versión y se han incorporado nuevos tipos de muestra y estudios microbiológicos.

# Relación de los tipos de muestra que se describen en esta guía

Orina (micción espontánea, bolsa perineal, sondaje, punción suprapúbica)

Heces y otras muestras gastrointestinales (coprocultivo, detección de antígeno y/o PCR virus, parásitos, test de Grahamenterobiasis, jugo gástrico-tuberculosis)

Hemocultivos (bacteriemia, fungemia, artritis, etc.)

Muestras del tracto respiratorio superior (exudado bucal/lingual, exudado faríngeo, exudado ótico, aspirado/exudado nasofaríngeo)

Muestras del tracto respiratorio inferior (esputo inducido)

Muestras oculares (exudado conjuntival)

Líquido cefalorraquídeo

Líquidos estériles (articular, biliar, peritoneal, pleural, etc.)

Muestras de piel y partes blandas (abscesos, exudado de herida, exudado herida quirúrgica, quemadura, mordedura, úlcera/vesícula cutánea, investigación de parásitos endémicos en piel, ectoparásitos, escamas piel, cuero cabelludo y uñas)

Suero, plasma y sangre completa

Muestras del tracto genital (exudado uretral, exudado endocervical, exudado vaginal, exudado rectal ITS, exudado faríngeo ITS, exudado balanoprepucial, úlcera genital)





ORINA			
Propósito	<ul> <li>Diagnóstico microbiológico de:         <ul> <li>Infecciones del tracto urinario (cistitis, pielonefritis, etc.).</li> <li>Infección congénita y adquirida por CMV.</li> <li>Cistitis hemorrágica por ADV.</li> <li>Sarampión o parotiditis ¹.</li> <li>Neumonías por Streptococcus pneumoniae o Legionella pneumophila (detección de antígeno).</li> </ul> </li> </ul>		
Material	Recipiente estéril de boca ancha con tapón a rosca (con o sin tubo de vacío), bolsas adhesivas, jeringa y aguja estéril, sonda vesical, etc.		
Métodos de recogida	Micción espontánea, bolsa, sondaje, y punción suprapúbica.		
Obtención			





Cantidad	<ul> <li>Bacterias, Hongos: 1-10 ml.</li> <li>Micobacterias: 50 ml (3 muestras de tres días diferentes, a ser posible consecutivos).</li> <li>Virus (CMV, ADV, Exantemáticos): 5-10 ml. Enviar en las 2 primeras semanas del nacimiento para diagnóstico de infección congénita por CMV.</li> <li>Parásitos (Schistosoma spp.): 100 ml. Es importante el momento de recogida de la muestra siendo recomendable entre las 12-15 h tras realizar ejercicio físico (ej.: subir y bajar escaleras, correr, etc.) para aumentar la eliminación de huevos ya que el periodo de mayor excreción es al mediodía y al final de la micción. También como alternativa se puede recoger orina de 24 h.</li> </ul>	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Bacterias, Hongos y Micobacterias: Temperatura ambiente, ≤ 2 h. Virus: Temperatura 2-8°C, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Bacterias, Hongos y Micobacterias: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h. Virus: Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>	
Observaciones	<ul> <li>No conviene incrementar la ingesta de líquidos para forzar la diuresis.</li> <li>No emplear tubos con conservante para la investigación de hongos, micobacterias o virus.</li> <li>Indicar si la muestra se ha recogido tras la instauración de tratamiento antibiótico.</li> <li>No debe obtenerse orina de la bolsa de recolección o drenaje, ni tampoco desconectando e catéter de la bolsa.</li> </ul>	

LIFOTO V OTDAS MALIFOTDAS CA	ACTORINATES IN A LEG
HECES Y OTRAS MUESTRAS GA	
HECES (COPROCULTIVO Y PAR	•
Propósito	<ul> <li>Diagnóstico microbiológico de:         <ul> <li>Gastroenteritis bacterianas mediante cultivo y/o PCR (Salmonella spp., Shigella spp., Campylobacter spp., Yersinia spp., Escherichia coli enterohemorrágico, E. coli enterotoxigénico, Vibrio spp., Aeromonas spp., Plesiomonas shigelloides, etc.)² o víricas (detección de antígenos y/o PCR Rotavirus, ADV 40/41, Norovirus, Astrovirus, Sapovirus, etc.).</li> <li>Diarrea, íleo, megacolon tóxico asociado a Clostridioides difficile (detección antigénica, PCR y/o cultivo)³.</li> <li>Parasitosis intestinales (Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum, Entamoeba spp., etc.): Investigación de huevos, quistes y larvas mediante microscopía detección de antígeno (inmunocromatografía o ELISA) y/o PCR.</li> <li>Seguimiento o control postratamiento de infección por Helicobacter pylori⁴ (detección de antígeno fecal).</li> </ul> </li> </ul>
Material	Recipiente (cuña, pañal, etc.) lo más limpio posible, sin restos de jabón o desinfectante, depresor y recipiente estéril de boca ancha con tapón a rosca.
Obtención	<ul> <li>Las heces preferiblemente deben ser diarreicas (líquidas o pastosas, Escala Bristol 5 a 7), recién emitidas y de la zona con moco, sangre o pus, si los hubiere; evitando el contacto con agua u orina.</li> <li>Seleccionar una zona apropiada (con sangre, moco o pus) y, con un palito o cucharilla, recoger una cantidad de heces del tamaño de una nuez y depositarla en el recipiente estéril de boca ancha de tapón a rosca.</li> <li>En el caso de estudio de PARÁSITOS además:         <ul> <li>Idealmente, en los tres días previos al estudio, el paciente debe seguir una dieta en la que evite tomar verduras, legumbres, frutas ni pan integral, polen, antiácidos, etc.</li> <li>Se recomienda la obtención de tres muestras en tres días alternos<sup>5</sup>. Si el procesamiento de la muestra no va a ser de inmediato, la muestra se recogerá directamente en recipientes que contengan sustancias fijadoras (derivados de formaldehído, etc.) entregándose en el laboratorio lo antes posible intentando no acumular muestras. Para peticiones de PCR se recogerán heces frescas sin sustancias fijadoras.</li> <li>Cuando se vean en el ano o en las heces formas compatibles con parásitos (anillos de tenias, gusanos adultos, etc.), se recogerán en un recipiente estéril sin medio de transporte y se añadirá una pequeña cantidad de suero fisiológico.</li> </ul> </li> <li>Toxina de C. difficile: sólo indicado en heces líquidas o pastosas (Escala Bristol 5 a 7) de pacientes en tratamiento antibiótico actual o previo al cuadro, salvo pacientes con íleo paralítico o megacolon.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ul>





Cantidad	Coprocultivo y Parásitos: 10 g (aproximadamente el tamaño de una nuez) ó 10 ml (una o dos cucharadas).	
	<ul> <li>Parásitos: Tres muestras en tres días alternos<sup>5</sup> (ej.: L-X-V).</li> </ul>	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Bacterias y Parásitos: Temperatura ambiente, ≤ 2h. Virus: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h.</li> <li>Conservación: Bacterias y Parásitos: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h. Virus: Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>	
Observaciones	<ul> <li>Indicar antecedentes epidemiológicos como viajes recientes a áreas endémicas (diarrea del viajero), ingesta mariscos crudos o parcialmente cocidos, baños en agua del mar o agua dulce (lagos, etc.), etc.</li> </ul>	
TEST DE GRAHAM O PRUEBA D	DEL CELLO	
Propósito	Diagnóstico microbiológico de enterobiasis u oxiuriasis (Huevos de <i>Enterobius vermicularis</i> ) <sup>6</sup> .	
Material	Recipiente estéril de boca ancha de tapón a rosca, portaobjetos y cello transparente (no translúcido).	
Obtención	<ul> <li>La recogida de la muestra debe realizarse al levantarse por la mañana sin aseo previo.</li> <li>Lavarse bien las manos antes y después de la recogida de la muestra, ya que estos huevos son altamente infectivos a las 4-6 h de haber sido puestos.</li> <li>Cortar cello transparente de una longitud un poco menor que la del portaobjetos (3cm x 1cm). Aplicar la cara adhesiva sobre el margen perianal y el orificio anal varias veces y posteriormente, pegar a la porción transparente del portaobjetos.</li> <li>Introducir en un recipiente estéril o sobre cerrado y proceder a la identificación de la muestra.</li> </ul>	
Cantidad	<ul> <li>Tres muestras (portaobjetos) en tres días consecutivos que deben ser almacenados en un recipiente estéril o sobre cerrado.</li> </ul>	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, &gt; 2 h.</li> </ul>	
JUGO GÁSTRICO		
Propósito	Investigación de micobacterias en pacientes que no expectoran.	
Material	Recipiente estéril de boca ancha de tapón a rosca.	
Obtención	<ul> <li>Realizar la aspiración gástrica tras un período mínimo de ayuno de 8 horas atendiendo al procedimiento médico especializado correspondiente.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ul>	
Cantidad	<ul> <li>Se obtendrá la cantidad máxima posible.</li> <li>3 muestras en días diferentes.</li> </ul>	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, entrega inmediata.</li> <li>Conservación: No procede.</li> </ul>	

HEMOCULTIVOS			
Propósito y definiciones	<ul> <li>Diagnóstico microbiológico de bacteriemia y fungemia.</li> <li>Extracción: venopunción o extracción a través de dispositivos intravasculares (bacteriemia asociada a catéter).</li> <li>Hemocultivo: muestra sangre de una venopunción que se inocula en dos botellas (aerobia y anaerobia) o en una botella (aerobia) en función del peso<sup>7</sup>.</li> </ul>		
Material	Solución alcohólica de clorhexidina al 2% (> 30 meses) o acuosa al 0.5% (< 30 meses, piel no queratinizida) <sup>8</sup> , jeringa y aguja estéril, gasas y guantes estériles, frascos de hemocultivos (aerobio, anaerobio <sup>9</sup> , pediátrico), etc.		
Obtención	<ol> <li>Realizar higiene de manos previa a la atención del paciente, identificar al paciente y colocarse guantes y mascarilla.</li> <li>Retirar los tapones externos de los frascos. Limpiar con clorhexidina los tapones de los viales, dejar secar.</li> <li>Colocar el compresor entre 10-15 cm por encima del punto elegido para la punción. Realizar palpación de la vena, debiendo utilizarse una vena distinta para cada extracción.</li> <li>Realizar higiene de manos y proceder al uso de guantes limpios preferiblemente estériles.</li> </ol>		





	5. 6. 7. 8.	<ul> <li>fricción vigorosa dejando secar al menos 30 segundos. Si hay contraindicación expresa/alergia uso de alcohol al 70% o povidona yodada, y dejar secar 1-2 minutos.</li> <li>6. Introducir la sangre primero en el frasco anaerobio sin introducir aire, y luego en el frasco aerobio. En el caso de los niños con peso inferior a 36.3 kg realizar una o dos extracciones e inocular en frascos atendiendo al peso (ver apartado cantidad).</li> <li>7. Mover suavemente los frascos de modo que la sangre y el medio de cultivo se mezclen.</li> </ul>				
		Peso del paciente (kg)		dado de sangre para o (ml)	Volumen total para cultivo (ml)	
			Extracción nº 1	Extracción nº 2		
Cantidad		≤ 1	2 (FP)	-	2	
Cantidad		1.1 – 2	2 (FP)	2 (FP)	4	
		2.1 – 12.7	4 (FP)	2 (FP)	6	
		12.8 – 36.3	10 (FA)	10 (FA)	20	
		> 36.3	20-30 (2 frascos:	20-30 (2 frascos:	40-60	
			FA Y FAN)	FA Y FAN)		
Transporte y Conservación	•	•	eratura ambiente, ≤ 2			
	•		peratura ambiente, ≤			
	Bacteriemia asociada a catéter: El diagnóstico de este proceso puede abordarse con y sin      activada del actétura.				con y sin	
	retirada del catéter.  O Con retirada del catéter, la punta del mismo debe enviarse para cultivo y debe ir					
	acompañada con un hemocultivo obtenido dentro de los 30 minutos siguientes a la					
	extracción del mismo.					
Observaciones	o Sin retirada del catéter, se debe utilizar la técnica del tiempo diferencial de					
	positividad. Se trata de comparar el tiempo que tardan los frascos en dar un					
	resultado positivo, comparando el tiempo de los frascos de hemocultivos extraídos					
			•	obtenidos a través de		
	inocular en cada frasco estrictamente la misma cantidad de sangre, hacer todas las tomas a la vez e incubar inmediatamente los frascos.				r todas las	

MUESTRAS DEL TRACTO RESPI	RATORIO SUPERIOR		
Exudado bucal/lingual			
Propósito	Diagnóstico microbiológico de candidiasis oral y gingivoestomatitis herpética.		
Material	Suero salino estéril para lavado bucal.  Hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido Amies o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies (hongos).  Hisopo flocado estéril con medio de transporte universal (UTM®) (VHS).		
Obtención	<ol> <li>Se pedirá al paciente que se enjuague la boca con suero salino.</li> <li>A continuación, se tocarán las lesiones de la mucosa oral con cada uno de los hisopos.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>		
Cantidad	• No procede.		
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2h. Virus: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h. Virus: Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>		
Exudado faríngeo			
Propósito	<ul> <li>Diagnóstico microbiológico de:         <ul> <li>Faringitis bacteriana y/o escarlatina (Streptococcus pyogenes – detección de antígeno y/o cultivo¹¹0, otros estreptococos betahemolíticos - cultivo, Arcanobacterium haemolyticum – cultivo, Fusobacterium necrophorum - cultivo).</li> </ul> </li> </ul>		





	<ul> <li>Faringitis vírica (ADV, CMV, VEB, EV, etc.).</li> <li>Bronquitis aguda (PCR Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae).</li> <li>Micosis orofaríngea.</li> <li>Detección de EV como muestra adicional al líquido cefalorraquídeo en el diagnóstico de EV (cultivo, PCR).</li> </ul>			
Material	Depresor lingual.  Bacterias y hongos: Hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido Amies o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies.  M. pneumoniae, C. pneumoniae y virus (PCR): Hisopo flocado estéril con medio de transporte universal UTM®.			
Obtención	<ol> <li>Con ayuda de un depresor lingual, se tomará la muestra haciendo rodar el hisopo sobre las criptas tonsilares y la faringe posterior, tocando en todas las zonas con exudado, membranas o inflamación. Evitar tocar la mucosa oral o lengua o úvula.</li> <li>Introducir el hisopo en el tubo con medio de transporte sólido, líquido Amies o UTM® en función del tipo de estudio a solicitar.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>			
Cantidad	• No procede.			
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2h. Virus: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h. Virus: Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>			
Observaciones	Los hisopados de garganta están contraindicados en los casos de epiglotitis.			
Exudado ótico				
Propósito	Diagnóstico microbiológico de otitis externa y otitis media aguda (bacterias, hongos y micobacterias) <sup>11</sup> .			
Material	Otoscopio estéril, jeringa y aguja estéril, hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido Amies, hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies, recipiente estéril con tapón a rosca, etc.			
Obtención	Otitis externa: Bajo inspección otoscópica, se recogerá muestra del exudado con hisopo.  Otitis media aguda:  1. Con tímpano perforado: tras la limpieza del canal externo y cuidando de no tocar otras zonas, se introducirá el hisopo y recogerá muestra del exudado que drena por la perforación, empleando un otoscopio estéril.  2. Con tímpano íntegro: la muestra deberá tomarla el especialista, que la recogerá por procedimientos especiales (timpanocentesis).  Proceder a la identificación de la muestra.			
Cantidad	Se obtendrá la cantidad máxima posible.			
Transporte y conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura 2-8ºC, ≤ 24 h (oído externo); Temperatura ambiente, ≤ 24 h (oído interno).</li> </ul>			
Observaciones	• Informar en el volante de petición si se trata de una otitis media u otitis externa.			
Aspirado/Exudado nasofaríng	ео			
Propósito	<ul> <li>Diagnóstico microbiológico de:         <ul> <li>Infecciones respiratorias (bronquiolitis, bronquitis, neumonía, etc.) fundamentalmente de etiología viral (detección antigénica y/o PCR y/o cultivo de VRS, INF, VPI, ADV, RV, MPV, CoV (SARS-CoV-2, otros), etc.).</li> <li>Infecciones respiratorias (bronquiolitis, bronquitis, neumonía, etc.) por bacterias no habituales (M. pneumoniae, C. pneumoniae, etc.)</li> <li>Tosferina y neumonía (Bordetella spp).</li> </ul> </li> </ul>			
Material	<ul> <li>Aspirado (niños pequeños): Sonda de aspiración, recipiente estéril de tapón a rosca válido para la conexión al equipo de aspiración, solución salina estéril, etc.</li> <li>Exudado (niños mayores):         <ul> <li>Bordetella: preferiblemente dos hisopos finos de rayón, dacrón, o nylon con vástago flexible con/sin medio de transporte (uno para PCR y otro para cultivo): ver observaciones.</li> </ul> </li> </ul>			





	<ul> <li>Virus: hisopo flocado estéril con medio de transporte universal UTM® para detección antigénica y/o PCR y/o cultivo.</li> </ul>		
Obtención	El paciente debe estar en ayunas o que al menos hayan transcurrido dos horas desde la última comida.  1. Niños pequeños: aspiración según procedimiento médico especializado correspondiente.  2. Niños mayores: introducir el hisopo por la fosa nasal, manteniéndolo apoyado sobre el suelo de la misma y próxima al septo, hasta llegar a nasofaringe; a continuación, rotar durante 5 segundos (al menos 3 veces) para absorber las secreciones y extraer. Repetir el mismo procedimiento con el otro hisopo. Introducir el hisopo en el medio de transporte.  3. Proceder a la identificación de la muestra.		
Cantidad	• Volumen mínimo: 2-3 ml.		
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Bacterias: Temperatura ambiente, ≤ 2 h. Bordetella: Entrega inmediata, 2-8°C. Virus: Temperatura 2-8°C, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Bacterias: Temperatura ambiente, ≤ 24 h. Bordetella: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h. Virus: Temperatura 2-8°C, &gt; 2 h. Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>		
Observaciones	<ul> <li>Las técnicas microbiológicas que se realizan con aspirado nasofaríngeo presentan mayores valores de sensibilidad que las realizadas con exudado nasofaríngeo.</li> <li>La combinación del cultivo y PCR son las pruebas recomendadas de elección para Bordetella spp. Si es posible, se recomienda recoger dos hisopos nasofaríngeos (uno por cada fosa nasal), y si se estima retraso en el transporte de la muestra, se recomienda el uso de medios de transporte especiales como medios Regan-Lowe, Amies, o Charcoal (para la muestra de cultivo).</li> <li>Es conveniente no realizar aspirados nasofaríngeos ante la sospecha o situaciones de alta prevalencia de SARS-CoV-2. En caso de que su realización sea imprescindible, realizar con equipos y medios de seguridad adecuados.</li> </ul>		

MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR		
Esputo inducido		
Propósito	Investigación de micobacterias en pacientes que no expectoran.	
Material	Suero salino estéril. Recipiente estéril de boca ancha con tapón a rosca.	
Obtención	<ol> <li>Previo a la extracción de la muestra, el paciente debe de enjuagarse la boca con agua después del cepillado de encías y lengua.</li> <li>Con ayuda de un nebulizador, hacer que el paciente inhale aproximadamente 25 ml de suero salino estéril 3-10%.</li> <li>Recoger en el recipiente estéril.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>	
Cantidad	<ul> <li>Volumen mínimo: &gt; 1 ml.</li> <li>3 muestras de días diferentes.</li> </ul>	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2h.</li> <li>Conservación: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h.</li> </ul>	





MUESTRAS OCULARES				
Exudado conjuntival (indicar lo	Exudado conjuntival (indicar localización)			
Propósito	Diagnóstico microbiológico de conjuntivitis bacteriana ( <i>Staphylococcus</i> spp., <i>S. pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella</i> spp., etc.) <sup>12</sup> y vírica (ADV, VHS, etc.) <sup>13</sup> .			
Material	Suero salino estéril.  Jeringa y aguja estéril.  Hisopo grueso o fino estéril con medio de transporte Amies o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies (Bacterias).  Hisopo flocado estéril con medio de transporte universal UTM® (Virus).			
Obtención	<ol> <li>Humedecer el hisopo con suero salino y frotar con ella la conjuntiva tarsal inferior, desde el ángulo lateral al interno.</li> <li>En caso de obstrucción del canal lacrimal, presionar sobre éste, y recoger exudado.</li> <li>Utilizar un hisopo para cada ojo, marcando derecho/izquierdo en el envase.</li> <li>Si se sospecha infección por virus hay que tomar un hisopo adicional e introducir la muestra en el medio de transporte UTM.</li> <li>Durante la toma de la muestra ha de evitarse el contacto con el borde del párpado para no arrastrar microbiota colonizante.</li> <li>Si hay exudado purulento procedente del canal o del saco lagrimal, hay que aspirarlo con jeringa. También se puede aspirar el material obtenido en el curso de una dacrioscistectomía o canalicutomía.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>			
Cantidad	Se obtendrá la máxima cantidad posible.			
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2h. Virus: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h. Virus: Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>			
Observaciones	<ul> <li>Las muestras oculares deben tomarse antes de instaurar tratamiento antibiótico, ya que estos pueden inhibir el crecimiento bacteriano o fúngico. Si esto no es posible, por lo menos dejar al menos 4 horas tras la última administración.</li> <li>Si es posible, coger muestra de ambos ojos pero con hisopos diferentes, aunque sólo un ojo se encuentre infectado, para determinar la flora saprofita habitual del individuo.</li> <li>En este apartado, se excluyen las muestras invasivas (raspado corneal, humor vítreo, etc.) para estudio de bacterias, hongos, y parásitos (<i>Acanthamoeba</i> spp.: cultivo y/o PCR de raspado corneal y/o lente de contacto y/o líquido de preservación), las cuales serán recogidas por el oftalmólogo.</li> </ul>			

LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO			
Propósito	Diagnóstico microbiológico de meningitis bacteriana (cultivo, PCR), fúngica (detección de antígeno criptocócico, cultivo, y/o PCR), micobacteriana (cultivo, PCR), y/o vírica (PCR VHS, VVZ, ETV <sup>14</sup> , Parechovirus, CMV, VHH-6, etc.), u otras etiologías de meningitis o encefalitis (ej.: Sífilis – VDRL).		
Material	Jeringa y aguja estéril.  Solución alcohólica de clorhexidina al 2% (>30 meses de edad) o acuosa al 0.5% (<30 meses de edad). Si contraindicación expresa/alergia, uso de povidona yodada o alcohol etílico del 70%.  Recipiente estéril de tapón a rosca.		
Obtención	<ol> <li>Obtener la muestra según técnica estándar de punción lumbar introduciendo una aguja en L3-L4, L4-L5, o interespacio L5-S1 siguiendo el procedimiento médico específico correspondiente, siempre que sea posible antes de instaurar cualquier terapeútica antimicrobiana pero nunca retrasando la instauración del tratamiento antibiótico empírico.</li> <li>Para ello, una vez definida la zona de punción, desinfectar la zona de muestreo (10 cm)</li> </ol>		





	realizando círculos concéntricos del centro a la periferia.				
	3. Transferir la muestra a un recipiente estéril, y proceder a la identificación de la muestra.				
Cantidad	Se obtendrá la cantidad máxima posible.				
	Determinación	Volumen min ( ml)	Determinación	Volumen min ( ml)	
	Bacterias	2 ml	Micobacterias	>2-6 ml (cantidad máxima posible)	
	Hongos	>2 ml (cantidad máxima posible)	Serología	1 ml	
	Virus	1-2 ml	PCR	1 ml	
Transporte y Conservación	• Transporte: Bacterias, Hongos: Temperatura ambiente, entrega inmediata. Nunca refrigerar.  Micobacterias: Temperatura ambiente, entrega inmediata. Serología, Virus, Parásitos: Temperatura 2-8°C, entrega inmediata.				
	• Conservación: Bacterias, Hongos: Temperatura ambiente o 35-37°C, ≤ 24 h. Micobacterias:				
	Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h. <b>Virus:</b> Temperatura -70°C, > 24 h.				
Observaciones	<ul> <li>Si no se pueden obtener las cantidades necesarias según lo solicitado (bacterias, virus, micobacterias, hongos, etc.) y los métodos disponibles en el laboratorio de Microbiología, se ruega priorizar.</li> </ul>				
	<ul> <li>En los casos de sospecha clínica de meningitis bacteriana es requerido además del cultivo de LCR, extraer hemocultivos.</li> </ul>				
	<ul> <li>Para estudios de serología (ej.: neurosífilis) o de antígeno de Cryptococcus spp. en LCR se debe enviar simultáneamente una muestra de suero.</li> </ul>				

LÍQUIDOS ESTÉRILES (articular	, biliar, pleural, periton	eal, pericárdico, etc.)		
Propósito	Diagnóstico microbiológico de artritis, colangitis, colecistitis, neumonía, peritonitis, pericarditis, etc.			
Material	Jeringa y aguja estéril.  Solución alcohólica de clorhexidina al 2% (>30 meses) o acuosa al 0.5% (<30 meses). Si contraindicación expresa/alergia, uso de povidona yodada o alcohol etílico del 70%.  Recipiente estéril de tapón a rosca.			
Obtención	<ol> <li>Realizar la toma asépticamente atendiendo a los diferentes protocolos vigentes en el centro (aspiración percutánea, procedimiento quirúrgico, etc.) evitando la contaminación por la flora cutánea o ambiental.</li> <li>Transferir la muestra a un recipiente estéril, y proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>			
Cantidad	Se obtendrá la cantidad máxima posible.			
	Determinación	Volumen mín (ml)	Determinación	Volumen mín (ml)
	Bacterias	5-10 ml	Micobacterias	10-100 ml (cantidad máxima posible)
	Hongos	>10 ml	PCR	1-2 ml
	Virus	2-10 ml		
	• Transporte: Bacterias, Hongos, Micobacterias: Temperatura ambiente, entrega inmediata.  Virus: Temperatura 2-8°C, entrega inmediata.			
Transporte y Conservación	<ul> <li>Conservación: Bacterias, Hongos: Temperatura ambiente, ≤ 24 h. Micobacterias, Virus:</li> <li>Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h. Virus: Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>			
Observaciones	<ul> <li>La inoculación de determinados líquidos estériles, como el líquido articular, en frascos de hemocultivos, aumenta el rendimiento del aislamiento de microorganismos tales como Kingella kingae. Si se envía el líquido estéril en frasco de hemocultivo, es imprescindible el</li> </ul>			





envío de un pequeño volumen de muestra en recipiente estéril para poder realizar estudio	
microscópico y cultivo directo convencional.	
• En micobacterias es preferible, siempre que se pueda, biopsia de tejido y enviar la cantidad	
máxima posible.	

MULICITIAS DE DIEL VIDADITES	DI AND AC
Abscesos y exudados purulent	
Propósito	Diagnóstico microbiológico de infección local o sistémica de piel y partes blandas (bacterias, hongos,
Material	micobacterias, parásitos).  Solución salina estéril.  Jeringa y aguja estéril.  Solución alcohólica de clorhexidina al 2% (>30 meses) o acuosa al 0.5% (<30 meses). Si contraindicación expresa/alergia, uso de povidona yodada o alcohol etílico del 70%.
Wateria	Recipiente estéril de tapón a rosca. Hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido Amies o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies.
Obtención	<ol> <li>Limpiar la piel con suero salino fisiológico y una gasa si existe suciedad.</li> <li>Realizar la toma asépticamente atendiendo a los diferentes protocolos vigentes en el centro (aspiración percutánea, procedimiento quirúrgico, etc.) evitando la contaminación por la flora cutánea o ambiental desinfectando un área de 10 cm, realizando círculos concéntricos del centro a la periferia.</li> <li>Transferir la muestra a un recipiente estéril, y proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>
Cantidad	Bacterias: 2 - 10 ml.      Hongos y Micobacterias: Se obtendrá la cantidad máxima posible.
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Bacterias, Hongos, Micobacterias: Temperatura ambiente, entrega inmediata.         Virus: Temperatura 2-8°C, entrega inmediata.</li> <li>Conservación: Bacterias, Hongos: Temperatura ambiente, ≤ 24 h. Micobacterias: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h.</li> </ul>
Observaciones	<ul> <li>Es importante especificar la localización de la muestra en la petición para una correcta interpretación.</li> <li>Si el volumen de la muestra es inferior a 2 ml, la muestra será remitida en la jeringa con la que se ha realizado la extracción obturando con un tapón hermético estéril.</li> </ul>
Exudado herida/herida quirúr	gica/quemaduras/mordeduras
Propósito	Diagnóstico microbiológico de infección de heridas, heridas quirúrgicas, quemaduras o mordeduras (bacterias, hongos, micobacterias).
Material	Solución salina estéril. Agua destilada estéril (micobacterias). Jeringa y aguja estéril. Solución alcohólica de clorhexidina al 2% (>30 meses) o acuosa al 0.5% (<30 meses). Si contraindicación
	expresa/alergia, uso de povidona yodada o alcohol etílico del 70%. Recipiente estéril de tapón a rosca. Hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido Amies o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies.
Obtención	<ol> <li>Lavar cuidadosamente la superficie de la herida como se ha descrito en el apartado de abscesos.</li> <li>Si hay exudado, recoger el exudado con jeringa y aguja, aspirando preferiblemente de zonas profundas. Si el volumen de muestra es escaso, inyectar solución salina estéril o agua destilada estéril en caso de micobacterias y aspirar nuevamente con la jeringa. Transferir la muestra a un recipiente estéril.</li> </ol>
	3. Menos adecuada es la toma de muestra con hisopo. Para ello, muestrear un área aproximadamente de 1 cm² del tejido celular subcutáneo de la base de la lesión preferiblemente. No frotar con fuerza para evitar el sangrado. En caso de heridas muy secas, impregnar la torunda con suero salino estéril antes de realizar la toma.





	<ol> <li>En caso de quemaduras se recomienda dos incisiones laterales de 1-2 cm de longitud separadas por 1,5 cm; luego, con un bisturí y pinzas estériles, se obtendrá una muestra lo suficientemente profunda como para llegar hasta el tejido viable.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>	
Cantidad	<ul> <li>Muestras líquidas: 5-10 ml.</li> <li>Resto: se obtendrá la máxima cantidad posible.</li> </ul>	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h.</li> </ul>	
Úlcera/vesícula cutánea		
Propósito	Diagnóstico microbiológico de infección de úlceras o vesículas cutáneas (bacterias, virus).	
Material	Jeringa y aguja estéril.  Solución alcohólica de clorhexidina al 2% (>30 meses) o acuosa al 0.5% (<30 meses). Si contraindicación expresa/alergia, uso de povidona yodada o alcohol etílico del 70%.  Recipiente estéril de tapón a rosca.  Hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido Amies o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies (bacterias).  Medio de transporte universal UTM® (virus).	
Obtención	<ol> <li>Bacterias: ver comentarios en exudado de herida/herida quirúrgica/quemadura o mordedura.</li> <li>Virus: tomar líquido de las vesículas con jeringa y pasar el contenido al tubo con medio de transporte UTM® aspirando y expulsando líquido varias veces para recoger todo el material de la jeringa.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>	
Cantidad	• No procede.	
Transporte y conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h. Virus: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h. Virus: Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>	
Investigación de parásitos enc	lémicos en muestras de piel	
Propósito	Investigación de leishmaniasis cutánea (Botón de Oriente) o microfilarias mediante microscopía y/o PCR.	
Material	Suero fisiológico estéril, punch, bisturí, placa Petri, portaobjetos, recipiente estéril de tapón a rosca, aguja subcutánea, etc.	
Obtención	<ol> <li>La toma de muestra debe realizarse en consulta hospitalaria.</li> <li>Leishmania spp. (raspado lesión cutánea): Limpiar la zona con suero fisiológico estéril, levantar la costra o piel por encima de la lesión y raspar con bisturí haciendo hincapié en los bordes de la lesión. Enviar la muestra con unas gotas de suero fisiológico.</li> <li>Microfilarias (pellizcos cutáneos): Obtener múltiples biopsias de diferentes zonas corporales (crestas ilíacas posteriores y gemelos en pacientes africanos y escápulas y lóbulos auriculares en pacientes americanos) mediante punch o bisturí, elevando la zona de la dermis con una aguja subcutánea e intentando que sea lo más exangüe posible.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>	
Cantidad	4 – 6 muestras de tejido en suero fisiológico estéril.	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h.</li> </ul>	
Ectoparásitos (piojo, ladilla, sa	arna, garrapata)	
Propósito	Sospecha de pediculosis, sarna, enfermedades por garrapatas, etc.	
Material	Bisturí, pinzas, recipiente estéril de tapón a rosca, suero fisiológico estéril, etc.	
Obtención	<ul> <li>Piojo de la cabeza y del cuerpo (Pediculus humanus capitis y P. humanus corporis), Ladillas (Phthirus pubis): Remitir el ectoparásito en un recipiente estéril cerrado. Cuando no pueda enviarse inmediatamente, pueden preservarse con etanol al 70%.</li> <li>Sarna (Sarcoptes scabiei): Depositar una gota de aceite en la piel, rascar la pápula acarina con bieturí del púmero 15 y realizar una extensión en un porta pietos (prupha de Müller).</li> </ul>	

bisturí del número 15 y, realizar una extensión en un portaobjetos (prueba de Müller).





	<ul> <li>Garrapata (Ixodes, Dermacentor, etc.): Introducir unas pinzas finas (sin dientes) entre la cabeza y piel, con tracción constante y firme, perpendicular a la piel. Si es insuficiente, se realizará con un corte de poca profundidad (1-2 mm) en la piel a ambos lados de la zona de la cabeza la garrapata. Esto provocará la retracción de las pinzas que la anclan. Desinfectar la zona y comprobar si han quedado restos en la piel. Transferir la garrapata a un recipiente cerrado con un algodón o papel filtro humedecido con suero fisiológico y proceder a la identificación de la muestra. Cuando no pueda enviarse inmediatamente, pueden preservarse con etanol al 70%.</li> </ul>	
Cantidad	No procede.	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h.</li> </ul>	
Escamas piel, cuero cabelludo	y uñas	
Propósito	Diagnóstico microbiológico de micosis superficiales de piel, pelo y uñas.	
Material	Suero fisiológico estéril, escalpelo, alicates, placa Petri, portaobjetos, etc.	
Obtención	<ul> <li>Antes de acudir a la prueba:         <ul> <li>Suspender todo medicamento sistémico o tópico con acción antifúngica 10 a 15 días antes de acudir a la toma de la muestra.</li> <li>De 3 a 5 días antes de la toma de la muestra debe cesar la aplicación de cualquier otro tipo de pomada, crema o polvo sobre la zona, ya sea de tratamiento médico o cosmético, así como retirar el esmalte de las uñas.</li> <li>La zona a muestrear deber lavarse con agua y jabón y es aconsejable realizar por lo menos un lavado cada día durante tres días con agua hervida con sal, tres días antes de acudir a la toma de la muestra.</li> <li>En el caso de que la muestra a estudiar sean las uñas, se recomienda no cortarlas en la semana anterior a la obtención de la muestra y además de los lavados es necesario el cepillado de las mismas.</li> </ul> </li> <li>Antes de realizar la recogida la muestra, pelos, piel o uñas deben limpiarse con etanol al 70% para eliminar la flora bacteriana u otros restos de tratamiento.</li> <li>Escamas piel:         <ul> <li>Raspar el borde activo con un escalpelo ya que dicho borde es el que contiene con mayor probabilidad elementos fúngicos viables, y no el centro.</li> <li>Recoger en una placa de Petri preferiblemente o en su defecto, un contenedor seco estéril.</li> <li>Además, si hay posibilidad, utilizar como técnica complementaria la moqueta, que consiste en frotar 5 veces con un cuadrado de alfombra estéril la totalidad de la superficie de lesión tras el raspado.</li> <li>Pelo:</li></ul></li></ul>	





	defecto, un contenedor seco estéril. Obtener el pus tras compresión de la porción lateral del dedo o bien con una lanceta y recoger con hisopo.
Cantidad	Se obtendrá la máxima cantidad posible.
Transporte y Conservación	Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 4 h.
Transporte y Conservacion	• Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 72 h.

SUERO, PLASMA Y SANGRE CO	IMPLETA	
Propósito	<ul> <li>Suero:         <ul> <li>Detección de anticuerpos frente a determinados agentes patógenos (VIH, VHB, VHC, Sífilis, CMV, VEB, virus exantemáticos, parotiditis, etc.).</li> <li>Determinación de antígeno de galactomanano de Aspergillus en sospecha de aspergilosis invasora<sup>15</sup>.</li> <li>Determinación de niveles de antibióticos (vancomicina, gentamicina, amikacina, etc.) y antifúngicos (voriconazol, etc.)<sup>16</sup>.</li> </ul> </li> <li>Plasma: Monitorización del estado de la infección del VIH, VHB, y VHC (útil para la instauración y seguimiento del tratamiento), etc.</li> </ul> <li>Sangre completa:         <ul> <li>Diagnóstico de agentes patógenos mediante la detección de ácidos nucleicos (ADN, ARN) con PCR.</li> <li>Investigación microscópica parásitos hemáticos (<i>Plasmodium</i>, <i>Leishmania</i>, microfilarias).</li> <li>Cribado y seguimiento de infección y/o enfermedad por CMV o VEB en grupos de riesgo.</li> <li>IGRA.</li> </ul> </li>	
Material	Soporte portatubo, aguja y tubos de vacío necesarios para las pruebas solicitadas.  Solución alcohólica de clorhexidina al 2% (>30 meses) o acuosa al 0.5% (<30 meses). Si contraindicación expresa/alergia, uso de povidona yodada o alcohol etílico del 70%.  Tubo sin anticoagulante con gel separador (Suero).  Tubo con anticoagulante (EDTA, heparina de litio (IGRA)) con o sin gel separador (sangre completa o plasma).	
Obtención	Según procedimiento médico correspondiente. Proceder a la identificación de la muestra.	
Cantidad	Llenar por completo los tubos.	
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h. Extracciones para detección de ácidos nucleicos (PCR): entrega inmediata en el laboratorio.</li> <li>Conservación: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h. Si &gt; 24 h, -20°C ó -70°C.</li> </ul>	
Observaciones	Si bien en muchas ocasiones un único resultado serológico puede proporcionar información desde un punto de vista clínico o epidemiológico (caso de hepatitis, infecciones establecidas por VIH, infecciones parasitarias, determinaciones en el contexto de embarazos, accidentes laborales, etc.), en otras es necesario el envío de 2 muestras de suero extraídas con 15-21 días de diferencia, con el fin de comprobar si se produce seroconversión. Esta actitud es especialmente útil en el contexto de infecciones agudas como es el caso de las neumonías atípicas ( <i>C. burnnetti, M. pneumoniae, C. pneumoniae</i> ), o toxoplasmosis aguda.	

MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL		
Exudado uretral masculino/ Ex	kudado endocervical	
Propósito	<ul> <li>Diagnóstico microbiológico de uretritis, cervicitis y enfermedad pélvica inflamatoria<sup>17</sup>.</li> <li>Abuso sexual.</li> </ul>	
Material	Hisopo fino de rayón con medio de transporte sólido o líquido Amies ( <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ).  Hisopo flocado estéril y medio de transporte UTM® ( <i>C. trachomatis</i> ).	





Camilla ginecológica y espéculo estéril.		
Section Sectio		
<ul> <li>Exudado uretral masculino:         <ul> <li>Lo ideal es realizar la toma a primera hora de la mañana, antes de que el paciente haya orinado. En caso contrario, el paciente no debe haber orinado durante, al menos, las 4 horas previas a la toma de muestra. La toma debe hacerse antes de comenzar el tratamiento antibiótico.</li> <li>Toma de muestra para <i>N. gonorrhoeae</i>: Introducir el hisopo 2 ó 3 cm en uretra haciendo rotar durante unos segundos, a continuación, colocar en el medio de transporte Amies, y cerrar éste.</li> <li>Toma de muestra para <i>C. trachomatis</i>: Introducir el hisopo flocado 2 ó 3 cm en uretra haciendo rotar unos segundos, para así obtener descamación, colocar en el medio de transporte UTM, romper la varilla en la zona de rotura, y cerrar éste.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ul> </li> <li>Exudado endocervical:         <ul> <li>Colocar el espéculo vaginal y hacer toma de exudado vaginal, si procede.</li> <li>Limpiar bien el moco cervical antes de la toma de muestra para <i>N. gonorrhoeae</i> y <i>C. trachomatis</i>.</li> <li>Toma de muestra para <i>N. gonorrhoeae</i>: Introducir un hisopo en el canal cervical y hacerlo rotar dentro de cérvix, durante, al menos 10 segundos, antes de extraerlo. No tocar la superficie vaginal en ningún momento.</li> <li>Toma de muestra para <i>C. trachomatis</i>: Introducir el hisopo flocado en el canal cervical, rotar durante unos segundos, para así obtener descamación, colocar en medio de transporte UTM, romper la varilla en la zona de rotura, y cerrar éste.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ul> </li> </ul>		
No procede.		
<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h.</li> </ul>		
<ul> <li>Enviar de modo concomitante suero para el estudio de otras posibles ITS como VIH, VHB, VHC, y sífilis.</li> <li>En las impúberes no se precisa exudado endocervical para el diagnóstico microbiológico puesto que la infección asienta en el epitelio vaginal; por ello, en las niñas se debería recoger exudado vaginal para el diagnóstico de infecciones causadas por <i>N. gonorrhoeae</i> y <i>C. trachomatis</i>.</li> </ul>		
<ul> <li>Diagnóstico microbiológico de vaginitis (<i>Candida</i> spp., <i>Trichomonas vaginalis</i>) o vaginosis bacteriana.</li> <li>Abuso sexual.</li> </ul>		
Camilla ginecológica. Hisopo grueso estéril con medio de transporte Amies o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies ( <i>N. gonorrhoeae</i> ). En niñas, se puede usar el hisopo fino estéril con medio de transporte Amies.		
<ol> <li>Introducir un hisopo en el fondo del saco vaginal y rotarlo para obtener suficiente muestra.</li> <li>Colocar en el medio de transporte.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>		
No procede.		
<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h.</li> </ul>		
<ol> <li>No utilizar óvulos, pomadas ni soluciones intravaginales en las 24 horas previas a la toma.</li> <li>No es aconsejable recoger la muestra durante la menstruación.</li> </ol>		





Exudado rectal ITS			
Propósito	<ul><li>Diagnóstico microbiológico de proctitis.</li><li>Abuso sexual.</li></ul>		
Material	Hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies ( <i>N. gonorrhoeae</i> ).  Hisopo flocado estéril y medio de transporte UTM® ( <i>C. trachomatis</i> ).		
Obtención	<ol> <li>Toma de muestra para N. gonorrhoeae: Introducir el hisopo 2 ó 3 cm en esfínter anal haciéndolo rotar durante unos segundos. A continuación, colocar en el medio de transporte Amies, y cerrar éste.</li> <li>Toma de muestra para C. trachomatis: Introducir el hisopo flocado 2 ó 3 cm en esfínter anal y rotar unos segundos, colocar en el tubo con medio de transporte UTM®, romper la varilla en la zona de rotura y cerrar éste.</li> <li>En caso de que el hisopo salga manchado de heces, deberá tomar una nueva muestra.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>		
Cantidad	No procede.		
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h.</li> </ul>		
Observaciones	Enviar de modo concomitante suero para el estudio de otras posibles ITS como VIH, VHB, VHC, y sífilis.		
Exudado faríngeo ITS			
Propósito	<ul> <li>Diagnóstico microbiológico de portadores de N. gonorrhoeae o C. trachomatis.</li> <li>Abuso sexual.</li> </ul>		
Material	Hisopo grueso estéril con medio de transporte Amies o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies ( <i>N. gonorrhoeae</i> ).  Hisopo flocado estéril y medio de transporte UTM® ( <i>C. trachomatis</i> ).		
Obtención	<ol> <li>Con ayuda de un depresor lingual, se tomará la muestra haciendo rodar el hisopo sobre las criptas tonsilares y la faringe posterior, tocando en todas las zonas con exudado, membranas o inflamación. Evitar tocar la mucosa oral o lengua.</li> <li>Introducir el hisopo en el tubo con medio de transporte correspondiente.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>		
Cantidad	Se obtendrá la máxima cantidad posible.		
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h.</li> </ul>		
Observaciones	Enviar de modo concomitante suero para el estudio de otras posibles ITS como VIH, VHB, VHC, y sífilis.		





Exudado balanoprepucial			
Propósito	Diagnóstico microbiológico de balanitis (investigación de <i>Candida</i> spp.).		
Material	Hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies.		
Obtención	<ol> <li>Recoger la muestra del surco balanoprepucial y de los bordes de las lesiones sospechosas (si las hubiese) con el hisopo, e introducirlo en el tubo con medio de transporte.</li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>		
Cantidad	Se obtendrá la máxima cantidad posible.		
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Temperatura ambiente, ≤ 2 h.</li> <li>Conservación: Temperatura ambiente, ≤ 24 h.</li> </ul>		
Úlcera genital			
Propósito	Investigación de bacterias ( <i>C. trachomatis, Haemophilus ducreyi, Treponema pallidum</i> ) y VHS (1 y 2).		
Material	Hisopo grueso estéril con medio de transporte sólido o hisopo (flocado o no) con medio de transporte líquido Amies ( <i>H. ducreyi</i> ).  Hisopo grueso estéril sin medio de transporte ( <i>T. pallidum</i> ) y portaobjetos.  Hisopo flocado estéril y medio de transporte UTM ( <i>C. trachomatis,</i> VHS).  Jeringa y aguja estéril.  Suero salino.		
Obtención	<ol> <li>H. ducreyi: Tomar la muestra haciendo rodar el hisopo ligeramente humedecido con suero salino sobre los márgenes de la úlcera e introducir el hisopo en el medio de transporte correspondiente.</li> <li>T. pallidum: Tomar la muestra haciendo rodar el hisopo sobre la base de la úlcera y extender la muestra en un portaobjetos para su posterior visión mediante microscopio de campo oscuro.</li> <li>Virus/C. trachomatis:         <ul> <li>Si hay vesículas: Tomar líquido de las mismas con jeringa y aguja y pasar el contenido al medio de transporte, aspirando y expulsando líquido varias veces para recoger todo el material de la jeringa.</li> <li>Si no hay vesículas o C. trachomatis: Con el hisopo humedecido en el medio de transporte UTM, tomar la muestra haciendo rodar el hisopo sobre la úlcera e introducir el hisopo en el medio de transporte, romper el hisopo por la zona de rotura y, cerrar el tubo.</li> </ul> </li> <li>Proceder a la identificación de la muestra.</li> </ol>		
Cantidad	Se obtendrá la cantidad máxima posible.		
Transporte y Conservación	<ul> <li>Transporte: Bacterias: Temperatura ambiente, ≤ 2 h. Virus: Temperatura 2-8°C, ≤ 24 h.</li> <li>Conservación: Bacterias: Temperatura ambiente, ≤ 24 h. Virus: Temperatura -70°C, &gt; 24 h.</li> </ul>		
Observaciones	Enviar de modo concomitante suero para el estudio de otras posibles ITS como VIH, VHB, VHC, y Sífilis.		





# Referencias bibliográficas:

- Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. Clin Infect Dis 2018; 67(6): e1-e94.
- García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017.
- Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, McAdam AJ, Patel R, Richter SS, Warnock DW. Manual of Clinical Microbiology. Twelveth Edition. 2019. American Society for Microbiology.
- Mandell, Douglas, and Bennett's. Principles and Practice of infectious diseases. Ninth Edition. 2019. ElSevier.
- Hernández-Bou S, Álvarez Álvarez C, Campo Fernández MN, García Herrero MA, Gené Giralt A, M Giménez Pérez M, et al. Blood cultures in the paediatric emergency department. Guidelines and recommendations on their indications, collection, processing and interpretation. An Pediatr (Barc) 2016; 84(5):294.e1-9.
- Galán Montemayor JC, Lepe Jiménez JA, Otero Guerra L, Serra Pladevall J, Vázquez Valdés F. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales. 2018. 24a. Vázquez Valdés F (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2018.
- Álvarez-Martínez M J, Belhassen-García M, Flores-Chavez MD, Pérez de Ayala A, Sulleiro E. 2020. 69.
   Diagnóstico de parasitosis importadas en España. Álvarez-Martinez M J (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2020.
- Zboromyrska Y, de Cueto López M, Alonso-Tarrés C, Sánchez-Hellín V. 2019. 14b. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. Zboromyrska Y (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2019.
- Pemán J, Martín Mazuelos E, Rubio Calvo MC. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. Rev Iberoam Micol. 2ª ed. Bilbao, 2007.

Abreviaturas: ADV: Adenovirus. CMV: Citomegalovirus. CoV: Coronavirus. ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas). EV: Enterovirus. FA: Frasco aerobio. FAN: Frasco anaerobio. FP: Frasco pediátrico. IGRA: ensayo de liberación de interferón gamma. INF: Virus Influenza. IPPB: Infección de piel y partes blandas. ITS: Infección de transmisión sexual. MPV: Metapneumovirus. PCR: reacción en cadena de la polimerasa. PeV: Parechovirus. RV: Rhinovirus. UTM: Universal transport medium. VDRL: Venereal Disease Research Laboratory (prueba no treponémica). VEB: Virus Epstein-Barr. VHB: Virus de la hepatitis B. VHC: Virus de la hepatitis C. VHH-6: Virus herpes tipo 6. VHS: Virus Herpes simple. VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana. VPI: Virus Parainfluenza. VRS: Virus respiratorio sincitial. VVZ: Virus Varicela-Zóster.

#### Notas aclaratorias

1. Para el diagnóstico del virus del sarampión mediante detección de ácidos nucleicos se recomienda una muestra de orina junto con un exudado faríngeo antes del 7º día de inicio de los síntomas. En el caso del virus de la parotiditis además de las pruebas serológicas, el diagnóstico se basa fundamentalmente en la detección de ácidos nucleicos siendo las muestras recomendadas saliva, orina y/o faríngeo.





- Indicar sospecha de toxiinfección alimentaria para ampliar la búsqueda de otros microorganismos como Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium prefringens, etc. Ponerse en contacto con Microbiología ya que la detección de dichas toxinas no está implementada en todos los laboratorios.
- Los neonatos y lactantes son considerados portadores asintomáticos de Clostridioides difficile, probablemente por la falta de receptores para las toxinas en su intestino. Por todo esto, no debe solicitarse dicha determinación en niños menores de 2 años.
- 4. Helicobacter pylori puede estar presente en niños a modo de colonización. La detección antigénica suele ser útil en el seguimiento de los pacientes o control postratamiento. En el caso de úlcera gastroduodenal con síntomas como epigastralgia y/o vómitos reiterados, valorar la realización de biopsia gástrica para ureasa, cultivo, y/o PCR.
- 5. El número de muestras a examinar es objeto de controversia. Si el estudio parasitológico se realiza mediante examen microscópico, parece que es más rentable la obtención de tres muestras recogidas en días alternos. Algunos autores establecen la obtención de una segunda y tercera muestra si el resultado de la primera muestra ha sido negativo y el paciente continúa sintomático. En el caso de estudio parasitológico mediante inmunocromatografía (fundamentalmente para Giardia) para ser necesario una única muestra, y en cuanto a la PCR dirigida a la detección de protozoos aún no existe un consenso, aunque la mayor sensibilidad de la técnica puede justificar el estudio de una única muestra por paciente para la detección de protozoos.
- 6. La muestra de heces no es adecuada para diagnóstico de Enterobius vermicularis (oxiuros).
- 7. De modo general en niños, se extrae un solo hemocultivo aerobio, y no se recomienda la extracción seriada de hemocultivos excepto en el paciente inmunodeprimido. Es de gran importancia, especialmente en niños, extremar las precauciones de asepsia en la extracción de sangre para reducir al mínimo la contaminación. Con una técnica correcta el número de hemocultivos contaminados no debe exceder del 3% de la cantidad total de hemocultivos procesados.
- 8. La povidona iodada se encuentra contraindicada en neonatos (0 a 1 mes) debido al fenómeno de Wolff-Chaikoff (bloqueo de la tiroides) y también por la interferencia con las pruebas del talón al medir TSH (hormona estimulante del tiroides) en el papel pudiendo inducir un hipotiroidismo transitorio con elevación de TSH en los fetos o en los recién nacidos. Como consecuencia de permeabilidad natural de su piel y su mayor sensibilidad al iodo de recién nacidos y los niños pequeños, el uso de povidona iodada se debe mantener en el mínimo absoluto en tales casos, salvo contraindicación expresa o alergia a clorhexidina, donde su utilización en niños menores de 30 meses se limitará a una aplicación breve y poco extensa, seguida de un enjuague con agua estéril.
- 9. Diversos estudios han demostrado que el riesgo de la población pediátrica de desarrollar una bacteriemia por anaerobios es mucho menor que en la población adulta, por ello se deberá solicitar de manera explícita dicho cultivo cuando exista sospecha clínica de sepsis de origen abdominal, de origen cutáneo (mucositis oral grave, mordeduras, heridas por aplastamiento, úlceras sacras), nosocomial tras cirugía abdominal o traumatológica, con hipotensión refractaria, fiebre de origen dentario, infecciones crónicas (sinusitis, osteomielitis), paciente inmunodeprimido, etc.
- 10. La prueba rápida de antígeno de **S. pyogenes** muestra una buena sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo pero menor valor predictivo negativo. Por ello, si la sospecha clínica es alta, los resultados negativos deben comprobarse mediante cultivo. Además, dicha prueba y el cultivo no discriminan entre infección y estado de portador. Ante causas infrecuentes como A. haemolyticum o F. necrophorum indicar la sospecha.
- 11. El exudado del oído externo se emplea para conocer la etiología en caso de otitis externa. Suele tratarse de muestras de mala calidad y en ningún caso resultan representativas de los microorganismos existentes en el oído medio.
- 12. La conjuntivitis neonatal puede ser causada por microorganismos tales como C. trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Herpesvirus, etc.
- 13. El diagnóstico diferencial de celulitis periorbitaria y orbitaria debe establecerse con conjuntivitis, traumatismos, alergias, etc. Para su diagnóstico microbiológico es necesario el envío de exudado mediante hisopo con medio de transporte Amies o bien de material drenado quirúrgico, además, se puede considerar el envío de hemocultivos, aunque presenta baja sensibilidad.
- 14. Para el diagnóstico de **meningitis o meningoencefalitis por EV**, a parte de la muestra de líquido cefalorraquídeo se recomienda el envío de muestra faríngea y heces.
- 15. El estudio de antígeno galactomanano de Aspergillus consta de mínimo una muestra dos días a la semana, y para seguimiento del tratamiento antifúngico (una muestra a la semana).
- 16. La obtención de sangre para la determinación de los niveles de antibióticos debe de realizarse en PICO o en VALLE, lo cual debe ser especificado en la petición. En el caso de niveles de voriconazol se recomienda la extracción de la muestra en VALLE.
- 17. Ureaplasma forma parte de la flora vaginal normal del 70% de mujeres sexualmente activas. La participación de U. urealyticum en uretritis es controvertida. Sin embargo, M. genitalium si ha sido relacionado con uretritis, cervicitis, endometritis, enfermedad pélvica inflamatoria, etc.
- 18. Neisseria gonorrhoeae y Trichomonas vaginalis son muy lábiles a las condiciones ambientales por lo que la entrega en el laboratorio debe ser lo más rápida posible, o conservar a temperatura ambiente hasta su entrega, no refrigerar.





Notas: la *Guía ABE* se actualiza periódicamente (al menos cada 2 años). Los autores y editores recomiendan aplicar estas recomendaciones con sentido crítico en función de la experiencia del médico, de los condicionantes de cada paciente y del entorno asistencial concreto; así mismo se aconseja consultar también otras fuentes para minimizar la probabilidad de errores. Texto dirigido exclusivamente a profesionales.

[☑] Comentarios y sugerencias en: laguiaabe@gmail.com



Con la colaboración de:





[©] Guía\_ABE, 2020. ISSN 2174-3568