

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

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

Coordinador: Daniel Tena Gómez

Edición 2022

Autores

Daniel Tena Gómez

Sección de Microbiología.
Hospital General Universitario de Guadalajara.
Guadalajara.

María Elena Rodríguez Zurita

Sección de Microbiología.
Hospital General Universitario de Guadalajara.
Guadalajara.

Sonia Solís del Baño

Sección de Microbiología.
Hospital General Universitario de Guadalajara.
Guadalajara.

Eva Heredero Gálvez

Servicio de Microbiología.
Hospital Virgen de la Salud.
Toledo.

Esther Manrique González

Laboratorio de Microbiología.
Hospital General de Valdepeñas.
Valdepeñas (Ciudad Real).

Soledad Illescas Fernández-Bermejo

Servicio de Microbiología.
Hospital General Universitario de Ciudad Real.
Ciudad Real.

Ana Sánchez-Maroto Lozano

Laboratorio de Microbiología.
Hospital Virgen de Altagracia.
Manzanares (Ciudad Real).

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
NORMAS BÁSICAS GENERALES	7
1. MUESTRAS DEL TRACTO URINARIO	
1.1. Orina (micción media)	9
1.2. Orina en pacientes con sonda permanente	12
2. MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR	
2.1. Exudado oral	15
2.2. Exudado faringo-amigdalár	17
2.3. Aspirado y exudado nasofaríngeo	19
2.4. Exudado nasofaríngeo (SARS-CoV-2)	20
3. MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR	
3.1. Esputo	23
4. MUESTRAS DE OÍDO	
4.1. Exudado ótico	26
5. MUESTRAS OCULARES	
5.1. Exudado conjuntival	28
6. MUESTRAS DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS	
6.1. Exantema	30
6.2. Escara	34
6.3. Absceso	37
6.4. Exudado de fístula	40

6.5. Exudado de herida	42
6.6. Exudado de úlcera vascular	45
7. MUESTRAS DE PIEL Y FANERAS	
7.1. Pelo	48
7.2. Raspado cutáneo	51
7.3. Uña	53
8. MUESTRAS DE HECES	
8.1. Heces	56
8.2. Test de Graham	59
9. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO	
9.1. Exudado endocervical	61
9.2. Exudado rectal/anal	63
9.3. Exudado uretral femenino	65
9.4. Exudado vaginal	68
9.5. Exudado vulvar	71
9.6. Úlcera genital	73
10. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO	
10.1. Exudado rectal/anal	75
10.2. Exudado uretral masculino	77
10.3. Úlcera genital	80
10.4. Semen	82
11. LÍQUIDOS BIOLÓGICOS NORMALMENTE ESTÉRILES	
11.1. Líquido sinovial	85

12. SANGRE PARA SEROLOGÍA Y DETECCIÓN DE ADN/ARN

12.1. Suero	88
12.2. Plasma	92
12.3. Sangre total	94

13. OTRAS MUESTRAS

13.1. Vesículas	96
13.2. Pestañas	98
13.3. Leche materna	99

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas se basa en el estudio de los signos y síntomas clínicos, así como en la identificación de los microorganismos causales. El diagnóstico clínico es presuntivo en muchas ocasiones y requiere del laboratorio de microbiología para conocer la causa de la infección.

La información diagnóstica que proporciona el laboratorio de microbiología depende de la calidad de la muestra recibida. Una muestra no representativa del proceso, mal recogida, insuficiente, o mal transportada, puede imposibilitar la identificación de los microorganismos causales, induciendo a errores diagnósticos e incluso a tratamientos antibióticos inadecuados. Este hecho es bien conocido por los microbiólogos pero no por otros profesionales sanitarios. Por este motivo, es necesaria la preparación continuada del personal sanitario, al que hay que concienciar de la falsedad de los resultados obtenidos a partir del procesamiento de muestras recogidas o conservadas de forma inadecuada.

El objetivo del manual es realizar una puesta al día en la recogida, transporte y conservación de las muestras microbiológicas, indicando el material necesario, el procedimiento para obtenerlas, el volumen y número necesarios, las condiciones de transporte, y las características especiales que presentan algunas de ellas. Se han incluido en cada tipo de muestra los procedimientos microbiológicos más habituales y una tabla en la que se detallan los microorganismos más frecuentes con significado clínico. Debe tenerse en cuenta que algunos microorganismos no se estudian de forma rutinaria y requieren técnicas microbiológicas especiales. En este sentido, la comunicación entre el clínico y el laboratorio de microbiología resulta esencial para el correcto procesamiento de las muestras.

La elaboración del manual se ha realizado con un objetivo eminentemente práctico. Su consulta puede establecer un nexo de colaboración entre los laboratorios de microbiología clínica de nuestra comunidad autónoma y los distintos centros de Atención Primaria, que permita mejorar los resultados de nuestro trabajo.

NORMAS BÁSICAS GENERALES

Cada muestra deberá ir acompañada de un volante de petición, principal mecanismo de comunicación entre el médico solicitante y el laboratorio, por lo que deberá cumplimentarse de forma legible aportando los siguientes datos:

1. Centro de Salud y médico solicitante.
2. Datos del paciente:
 - Nombre y apellidos completos, fecha de nacimiento o edad y CIP.
 - Diagnóstico o sospecha diagnóstica que motiva la solicitud de pruebas.
 - Tiempo de evolución, fase aguda o convalecencia.
 - Características especiales del paciente: diabetes, embarazo, inmunodepresión, alergia a antibióticos, etc.
 - Tratamiento antibiótico previo.
- 3 Tipo de muestra a estudiar.
 - En escaras, abscesos, fístulas, heridas, exudados o raspados de piel se indicará la localización anatómica de la muestra.
4. Determinaciones solicitadas (cultivo bacteriano, cultivo de hongos, examen en fresco, estudio de parásitos, cultivo de micobacterias, etc.). Si se solicita serología se debe especificar el tipo de anticuerpos a estudiar (IgG, IgM, anti HBs, etc.) o la finalidad de su estudio (diagnóstico, control de embarazo, etc.)
5. Fecha y hora de la toma de muestra.
6. Cuando exista la sospecha de infecciones por microorganismos no habituales se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología.

Actualmente, en Castilla La Mancha las peticiones realizadas desde Atención Primaria a los laboratorios de microbiología se realizan desde el programa de historia clínica TURRIANO. Los datos demográficos del paciente se rellenan automáticamente, al igual que el CIP. Se debe comprobar que la petición se realiza en la historia clínica del paciente deseado, especialmente si se tiene abierta más de una historia a la vez. Cuando se realice la solicitud de pruebas, dispone de los siguientes campos para aportar la información anteriormente mencionada: diagnóstico, tratamiento, observaciones y datos clínicos.

Las muestras deben ser representativas del proceso infeccioso a estudiar y recogerse en condiciones de máxima asepsia utilizando dispositivos estériles. Siempre que sea posible, la recogida de las muestras debe realizarse antes de iniciar el tratamiento antibiótico. Si esto no es posible, se hará constar al antibiótico administrado, la dosis y la duración del tratamiento.

El volumen de muestra necesario varía dependiendo del tipo de muestra y las determinaciones solicitadas.

Las muestras se remitirán al laboratorio lo antes posible, utilizando dispositivos estériles de cierre hermético adecuadamente identificados (número de petición y/o nombre del paciente). La ausencia de identificación de las muestras impide su procesamiento.

La demora en el transporte de las muestras puede producir que determinados microorganismos no sobrevivan o que queden encubiertos por otros que crecen con mayor rapidez. Por ejemplo, si una orina se almacenada durante más de 2 horas a temperatura ambiente, un número insignificante de bacilos gramnegativos puede proliferar y alcanzar los niveles de una bacteriuria significativa.

Si no es posible enviar la muestra, se recomienda consultar en el manual las condiciones de conservación para cada caso concreto. Ante cualquier duda es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología.

1. MUESTRAS DEL TRACTO URINARIO

1.1. Orina (micción media)

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una orina

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias ¹	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Enterococcus spp.</i>	Otras enterobacterias (<i>Morganella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Corynebacterium urealyticum</i> ²
Hongos	<i>Candida spp.</i> ²	
Micobacterias ³		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Micobacterias atípicas

¹Se investigan de forma rutinaria.

²Microorganismo de crecimiento lento. Crece en el cultivo bacteriano de rutina pero pueden requerir incubación prolongada. Un resultado negativo en un cultivo de rutina no lo descarta.

³Si existe sospecha de infección génito-urinaria por micobacterias se deberá solicitar cultivo específico.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Técnica para mujeres

- La paciente debe quitarse la ropa interior.
- Lavado de genitales externos y zona adyacente. Secado de la zona con gasa estéril, siempre de delante atrás.
- Se separarán los labios mayores y menores, y los mantendrá separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.
- Se solicitará a la paciente que orine desechando los primeros 20-25 ml., tras lo cual y sin interrumpir la micción, se recogerá el resto de la orina en el recipiente.
- El frasco debe sujetarse para que no tome contacto con pierna, vulva o ropa del paciente. Los dedos no deben tocar el borde del frasco o la superficie interior.

Técnica para hombres

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

Técnica para niños (bolsa colectora)

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

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

Volumen necesario, número de muestras y momento de la extracción

Cultivo	Volumen	Comentarios
Bacterias	0.5-1 ml.	Una muestra es suficiente. Recoger primera orina de la mañana. Si el recipiente contiene ácido bórico, es necesario al menos 5 ml.
Hongos	0.5-1 ml.	Una muestra es suficiente. Recoger primera orina de la mañana. Si el recipiente contiene ácido bórico, es necesario al menos 5 ml.
Micobacterias	Mínimo 40 ml.	Se deben recoger 3 muestras de 3 días consecutivos. No mezclar las muestras. Recoger primera orina de la mañana.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra debe enviarse al laboratorio lo antes posible o conservarse refrigerada a 4°C durante un tiempo máximo de 24 horas.
- Si la muestra se recoge en recipiente con ácido bórico, puede conservarse a temperatura ambiente durante 24 horas.
- Para estudio de micobacterias las muestras pueden conservarse a 4°C durante un máximo de 72 horas.

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

1.2. Orina en pacientes con sonda permanente

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una orina de sondaje

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

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Batea.
- Agua templada.
- Esponja con gel dermoprotector.
- Gasas estériles y no estériles.
- Solución acuosa con clorhexidina al 0.05% / etanol 70%.
- Pinzas para clampar.
- Jeringa de 10 ó 20 ml.

- Aguja de pequeño calibre.
- Recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético.

Técnica para obtener la muestra

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

A. Sistemas colectores cerrados

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

B. Sistemas colectores abiertos

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

Volumen o cantidad necesaria

- Extraer entre 10 y 20 ml.

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

2. MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

2.1. Exudado oral

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco.
- Tinción de Gram y cultivo (angina de Vincent).
- Cultivo de hongos.
- PCR de virus

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado oral

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias		<i>Treponema pallidum</i> ¹ <i>Borrelia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp. ²
Hongos	<i>Candida</i> spp. ³	
Virus	Virus herpes simple ⁴	

¹Solicitar serología. Existe la posibilidad de realizar PCR del chancro si existe lesión compatible (contactar con el laboratorio de microbiología).

²Produce angina de Vincent. Muy infrecuente. Solicitar tinción de Gram y cultivo.

³Se investiga de forma rutinaria mediante examen en fresco y/o cultivo.

⁴La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Si existe sospecha de infección por virus herpes simple se debe solicitar medio especial de transporte para virus para realizar PCR.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- Enjuagarse previamente la boca con agua.
- Frotar con la torunda las zonas purulentas o las lesiones de la mucosa oral, lengua u orofaringe.
- Utilizar el depresor para evitar contaminaciones con otras zonas de la boca.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Recoger la mayor cantidad posible de exudado.

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Observaciones

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

2.2. Exudado faringo-amigdal

Procedimientos microbiológicos más habituales

A. Faringitis

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado faríngeo

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus pyogenes</i> ¹	Estreptococos β -hemolíticos (grupos C y G) ¹ <i>Neisseria meningitidis</i> ² <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ³ <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> ⁴ <i>Treponema pallidum</i> ⁵ <i>Francisella tularensis</i> ⁶ <i>Yersinia enterocolitica</i> ⁷ <i>Fusobacterium necrophorum</i> ⁸ <i>Corynebacterium diphtheriae</i> ⁹

¹Se investiga de forma rutinaria.

²Detección de portadores. Contactar con el laboratorio de microbiología.

³Si existe sospecha (pareja sexual con uretritis gonocócica) es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología. El cultivo debe realizarse de forma inmediata tras la obtención de la muestra.

⁴Crece en los medios habituales de cultivo pero puede requerir incubación prolongada. Si existe sospecha (asociación a exantema máculo-papular) se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología.

⁵Si existe sospecha (pareja sexual con sífilis), se solicitará serología. Existe la posibilidad de realizar PCR del chancro si existe lesión compatible (contactar con el laboratorio de microbiología).

⁶Si existe sospecha (contacto con roedores, artrópodos, etc) es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología. *Francisella tularensis* requiere cultivo prolongado en medios especiales. Solicitar serología.

⁷Muy infrecuente. Puede causar faringitis exudativa sin diarrea.

⁸Causa faringitis en niños y adultos jóvenes. Ocasionalmente se asocia a abscesos, bacteriemia y síndrome de Lemierre. Si existe sospecha contactar con el laboratorio de microbiología para realizar cultivo anaerobio.

⁹Excepcional en nuestro medio. Produce faringitis membranosa.

B. Epiglottitis

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

Microorganismos causantes de epiglottitis

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

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Numero de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

- Las torundas con medio de transporte (para cultivo de bacterias) pueden conservarse a temperatura ambiente o refrigeradas (máximo 24 horas).
- Las torundas sin medio de transporte (para detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes*) se conservarán menos de 2 horas a temperatura ambiente o menos de 72 horas a 2-8°C.

Observaciones

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

2.3. Aspirado y exudado nasofaríngeo

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano aerobio.
- PCR específica de *Bordetella* spp.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado nasofaríngeo

- *Bordetella pertussis* y *Bordetella parapertussis* (agentes causales de tos ferina).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

- El transporte al laboratorio debe ser inmediato.

Observaciones

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

2.4. Exudado nasofaríngeo (SARS-CoV-2)

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismo a estudiar

- SARS-CoV-2

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

- Una muestra por técnica.

Realización de la técnica (detección de antígeno)

- Realizar el procedimiento lo antes posible desde la toma de la muestra.
- Seguir las instrucciones del fabricante.
- Si la técnica no se puede realizar en el momento, conservar la muestra refrigerada (máximo una hora).

Transporte y conservación de las muestras (PCR)

- El transporte al laboratorio debe ser lo antes posible.
- Si no se puede enviar en el momento, conservar la muestra refrigerada (máximo 24 horas).

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Desde marzo de 2022, según recomendaciones del Ministerio de Sanidad, la detección del virus SARS-CoV-2 (por antígeno o PCR) está indicada en personas con clínica compatible que cumplan alguno de los siguientes criterios:

A. Tenga criterios de vulnerabilidad: 60 años o más, inmunodeprimidos por causa intrínseca o extrínseca, y embarazadas.

B. Personas relacionadas con ámbitos vulnerables: personas que residen, acuden, están ingresadas o trabajan en ámbitos vulnerables (centros sanitarios asistenciales, centros

sociosanitarios, centros de día, centros penitenciarios y otros centros con personas institucionalizadas), así como trabajadores que prestan apoyo y cuidado a personas vulnerables.

C. Presentar un cuadro de infección respiratoria aguda de vías bajas que requiera ingreso hospitalario (preferiblemente diagnosticado por PCR).

D. Que se tenga constancia de que haya estado en los últimos 14 días en una región en la que esté circulando otra variante de interés.

- La detección de antígeno de SARS-CoV-2 solo es útil en los 5 primeros días de la fase sintomática. A partir del sexto día se recomienda solicitar PCR.
- La PCR puede permanecer positiva durante un periodo de tiempo muy variable, que puede alcanzar varios meses.
- Una PCR positiva no implica necesariamente que la persona sea contagiosa. En casos leves, se estima que el periodo de contagiosidad del virus es de 10 días desde el comienzo de los síntomas. Si la infección es moderada puede alcanzar los 14 días, y en casos graves o en inmunodeprimidos puede ser mayor (hasta 21 días).
- El CT es un marcador indirecto de carga viral. Su determinación no está estandarizada y depende de la técnica de PCR empleada, calidad de la muestra, tiempo de evolución, etc. Cada laboratorio establecerá el CT que se correlacione con menor carga viral.
- La detección del virus SARS-CoV-2 puede realizarse en muestras obtenidas en fosas nasales y saliva pero el rendimiento es menor.

3. MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

3.1. Esputo

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un esputo

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catharralis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catharralis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Legionella pneumophila</i> ^{1,2,3} <i>Mycoplasma pneumoniae</i> ³ <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> ³ <i>Chlamydomphila psittaci</i> ³ <i>Coxiella burnetii</i> ³ <i>Nocardia asteroides</i> ¹
Hongos ⁴		<i>Aspergillus</i> spp. ¹ <i>Scedosporium</i> spp. ¹ <i>Fusarium</i> spp. ¹ <i>Histoplasma capsulatum</i> ^{1,5}
Micobacterias ⁶		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Micobacterias atípicas ⁷

¹Si existe sospecha de infección se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología. Requiere medios y/o condiciones de cultivo especiales.

²Existe la posibilidad de realizar detección de antígeno de *Legionella pneumophila* en orina. No se realiza de rutina en Atención Primaria. Contactar con el laboratorio de microbiología.

³El diagnóstico requiere serología en fase aguda y de convalecencia para demostrar seroconversión. Existe la posibilidad de realizar PCR en muestras respiratorias. Contactar con el laboratorio de microbiología.

⁴Si existe sospecha de infección pulmonar fúngica se solicitará cultivo específico de hongos.

⁵Excepcional en nuestro medio.

⁶Si existe sospecha de infección pulmonar por micobacterias se solicitará cultivo específico.

⁷Las micobacterias atípicas pueden ser saprofitas y sólo tienen valor clínico en algunos casos.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras deben enviarse al laboratorio de microbiología lo antes posible.

- Para estudio de bacterias y hongos la muestra se conservará a temperatura ambiente (máximo 2 horas). Si se prolonga más de 2 horas se conservará refrigerada a 2-8°C (máximo 24 horas).
- Para estudio de micobacterias la muestra se puede conservar refrigerada a 4°C durante un máximo de 72 horas.
- Para estudio de bacterias atípicas (por técnica de PCR) la muestra se conservará menos de 2 horas a temperatura ambiente y hasta 5 días de 2-8°C.

Observaciones

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

4. MUESTRAS DE OÍDO

4.1. Exudado ótico

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado ótico

Patología	Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Otitis externa	Bacterias ¹	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc)
	Hongos ¹	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp.	
Otitis media aguda	Bacterias ¹	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Alloiococcus otitidis</i> Enterobacterias <i>Turicella otitidis</i>

¹Se investigan de forma rutinaria.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda obtener la mayor cantidad posible de exudado.

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

- Las torundas con medio de transporte para cultivo bacteriano y de hongos pueden conservarse a temperatura ambiente (máximo 48 horas).
- Mantener las torundas refrigeradas a 4°C si la sospecha es de infección fúngica.
- Retrasos superiores a 48 horas no son deseables.

Observaciones

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

5. MUESTRAS OCULARES

5.1. Exudado conjuntival

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado conjuntival

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Moraxella</i> spp. <i>Neisseria</i> spp. <i>Propionibacterium acnes</i> Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> ¹
Virus ²		Adenovirus Virus herpes simple

¹Muy infrecuente. No se investiga de forma rutinaria. Se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología. La detección de *Chlamydia trachomatis* requiere PCR.

²La detección de virus no se realiza de forma rutinaria y requiere PCR. Se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio de transporte para virus.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Obtener la mayor cantidad posible de exudado.

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Los cultivos preoperatorios de conjuntiva no son útiles. El número y tipo de microorganismos de la conjuntiva normal varía diariamente, por lo que estas muestras no son válidas, excepto en el caso de que existan signos inflamatorios a nivel ocular.

6. MUESTRAS DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS

6.1. Exantema

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exantema

Exantema	Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Vesicular-ampollosa	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> ² <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Capnocytophaga canimorsus</i>
	Virus ¹	Virus herpes simple Virus varicela zoster	
Nodular o papular	Bacterias	<i>Streptococcus pyogenes</i> ²	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> ² <i>Bartonella</i> spp. ³
	Hongos ⁴		<i>Candida</i> spp.
	Micobacterias ⁵		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium marinum</i>
	Virus ¹	Virus herpes simple Virus varicela zoster	
Purpúrico	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Capnocytophaga canimorsus</i> <i>Neisseria meningitidis</i>
Eritematoso	Bacterias	<i>Borrelia burgdorferi</i> ⁶	<i>Ehrlichia chaffeensis</i> ⁷

¹La detección de virus no se realiza de forma rutinaria y requiere PCR. La muestra puede obtenerse a partir del contenido y del escarificado de la base de la vesícula. Se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio de transporte para virus.

²Asociación a faringitis.

³Produce enfermedad por arañazo de gato. Si existe sospecha solicitar cultivo con incubación prolongada, serología o PCR de la lesión cutánea (biopsia).

⁴Si existe sospecha de infección fúngica se solicitará cultivo específico de hongos.

⁵Muy infrecuente. Si existe sospecha de infección por micobacterias se solicitará cultivo específico.

⁶Produce enfermedad de Lyme. Cursa con eritema anular migratorio. Si existe sospecha (picadura por garrapatas) solicitar serología o PCR de la lesión cutánea (biopsia). *Borrelia burgdorferi* no crece en los medios de cultivo habituales.

⁷Si existe sospecha (picadura por garrapatas) solicitar serología o PCR de la lesión cutánea (biopsia). *Ehrlichia chaffeensis* no crece en los medios de cultivo habituales.

Material necesario para la toma de la muestra.

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

Técnica para obtener la muestra

A. Aspiración con aguja

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

B. Frotis con torunda

- Las muestras recogidas con torunda **NO** son recomendables por tener menor cantidad de muestra y presentar mayor riesgo de contaminación con flora saprofita de la piel. La obtención de la muestra mediante torunda puede dar lugar al aislamiento de microorganismos colonizadores no relacionados con la infección.
- Deberán usarse torundas con medio de transporte.
- Limpiar la superficie de la lesión con una gasa humedecida en suero salino.
- Si la lesión es costrosa se debe retirar la costra con la ayuda de la punta de una aguja estéril.
- Rotar la torunda sobre la base de la lesión evitando contaminación con las zonas adyacentes.

Volumen o cantidad necesaria de la muestra.

- Aspirar o recoger la mayor cantidad posible de muestra.

Número de muestras y momento de la extracción.

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

Transporte y conservación de las muestras

A. Aspirados con jeringas

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

B. Torundas

- Las torundas con medio de transporte se enviarán al laboratorio de microbiología antes de 2 horas. Si no es posible, se mantendrán refrigeradas entre 2-8°C (máximo 24 horas).

- Las torundas con medio de transporte para virus se pueden conservar refrigeradas entre 2-8°C durante un máximo de 24 horas. Para intervalos más prolongados se deben congelar a -70°C.

Muestras inadecuadas.

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Se debe especificar la localización anatómica de la muestra.
- La mejor muestra para estudio de micobacterias es la biopsia. Deben enviarse en un contenedor estéril con suero fisiológico estéril. Pueden conservarse refrigeradas a 2-8°C durante un máximo de 24 horas.
- Las biopsias cutáneas para PCR de *Borrelia burgdorferi* o *Ehrlichia chaffeensis* deben recogerse en un contenedor estéril con suero fisiológico estéril y mantenerse refrigeradas a 2-8°C.

6.2. Escara

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una escara

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias aerobias	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp, etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus</i> spp.	<i>Achromobacter</i> spp. <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Bacillus anthracis</i> ¹ <i>Nocardia</i> spp. ¹ <i>Rickettsia conorii</i> ²
Bacterias anaerobias	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	<i>Clostridium perfringens</i>
Hongos ³	<i>Candida</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp. ¹ <i>Mucor</i> spp. ¹

¹Muy infrecuente. Cuando exista sospecha se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología. Requiere medios y/o condiciones de cultivo especiales.

²Produce la fiebre botonosa (“mancha negra”). Si existe sospecha (picadura por garrapatas) se debe solicitar serología o PCR de la lesión cutánea (biopsia). *Rickettsia conorii* no crece en los medios de cultivo habituales.

³Si existe sospecha de infección fúngica se deberá solicitar cultivo específico de hongos.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril.
- Jeringa y aguja estéril.
- Tubo o contenedor estéril con tapón de rosca.
- Torunda con medio de transporte de Stuart-Amies.

Técnica para obtener la muestra

A. Aspiración con aguja

- Es el procedimiento de mayor rendimiento diagnóstico y por lo tanto debe realizarse siempre que sea posible.
- Lavar la superficie de la herida con suero fisiológico estéril y desbridar si es necesario.
- Recoger el pus con jeringa y aguja aspirando preferentemente de zonas profundas o de los bordes.
- Si la muestra es insuficiente o no existe pus, inyectar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y aspirarlo nuevamente con la jeringa.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril.
- No se recomienda enviar la jeringa con aguja por el riesgo de pinchazos.

B. Frotis con torunda

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

A. Aspirados con agujas

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

B. Torundas

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración.
- Todas las úlceras cutáneas están colonizadas por bacterias. El aislamiento de bacterias no indica necesariamente que la escara esté infectada, sobre todo si la muestra se ha obtenido mediante torunda.
- La visualización de leucocitos en la tinción de Gram puede orientar sobre el valor clínico de los microorganismos aislados, especialmente si la muestra se obtiene mediante torunda.
- Especificar la localización anatómica de la muestra y las características que presenta.
- Si existe sospecha de infección por *Bacillus anthracis* deberá comunicarse al laboratorio de forma inmediata.
- Si la escara se asocia a celulitis, la obtención de la muestra se realizará obligatoriamente mediante punción aspiración con aguja del borde eritematoso de la lesión.
- Las biopsias cutáneas para PCR de *Rickettsia conorii* deben recogerse en un contenedor estéril con suero fisiológico estéril y mantenerse refrigeradas a 4°C.

6.3. Absceso

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un absceso

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias aerobias	<i>Enterobacterias (Escherichia coli, Proteus spp., Klebsiella spp., etc)</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus viridans</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Enterococcus spp.</i>	<i>Aeromonas spp.</i> <i>Haemophilus spp.</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Brucella spp.</i> ¹ <i>Nocardia spp.</i> ¹
Bacterias anaerobias	<i>Bacteroides spp.</i> <i>Clostridium spp.</i> <i>Prevotella spp.</i> <i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Fusobacterium spp.</i> <i>Actinomyces spp.</i> ² <i>Actinotignum spp.</i> ²
Hongos ³	<i>Candida spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i> ¹
Micobacterias ⁴		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ¹ Micobacterias atípicas ¹

¹Muy infrecuente. Cuando exista sospecha se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología. Requiere medios y/o condiciones de cultivo especiales.

²Se aíslan con frecuencia en abscesos perianales y sinus pilonidal.

³Si existe sospecha de infección fúngica se solicitará cultivo específico de hongos.

⁴Si existe sospecha de infección por micobacterias se solicitará cultivo específico.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico al 70%.
- Povidona iodada al 10%.
- Jeringa y aguja estéril.
- Contenedor estéril con tapón de rosca.

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración.
- Especificar en la petición la localización anatómica de la muestra.
- Cuando exista sospecha de infección por microorganismos altamente patógenos (e.j. *Brucella* spp.), se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de forma inmediata.

6.4. Exudado de fístula

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una fístula

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias aerobias	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Enterococcus</i> spp.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptomyces</i> spp. ¹ <i>Nocardia</i> spp. ¹
Bacterias anaerobias	<i>Bacteroides</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Prevotella</i> spp.	<i>Fusobacterium</i> spp. <i>Actinomyces</i> spp. <i>Actinotignum</i> spp.
Hongos ²	<i>Candida</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp. ¹

¹Muy infrecuente. Cuando exista sospecha se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología. Requiere medios y/o condiciones de cultivo especiales.

²Si existe sospecha de infección fúngica se deberá solicitar cultivo específico de hongos.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico al 70%.
- Povidona iodada al 10%.
- Jeringa y aguja estéril.
- Contenedor estéril con tapón de rosca.

Técnica para obtener la muestra

- Desinfectar la superficie cutánea con una gasa estéril impregnada en alcohol.
- Repetir la operación con povidona yodada y dejar secar. En pacientes con hipersensibilidad al yodo se utilizará alcohol dos veces consecutivas.
- Dejar secar al menos un minuto para que la povidona ejerza su acción antiséptica.
- Aspirar el exudado de la parte profunda de la fístula con jeringa y aguja.
- Si la muestra es insuficiente se podrá instilar suero fisiológico estéril y posteriormente se aspirará con la jeringa.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril.
- No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.
- Si no es posible recoger la muestra mediante aspiración con aguja, se obtendrá la muestra con una torunda, realizando un frotis de la parte profunda.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición.
- Las muestras obtenidas mediante torunda son inadecuadas para cultivo microbiológico. Los trayectos fistulosos suelen estar colonizados por microorganismos que no están implicados en la patogenia del proceso. Por ello, la rentabilidad del cultivo mediante torunda es baja y los resultados se deben evaluar con precaución.
- Especificar la localización anatómica de la muestra.

6.5. Exudado de herida

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una herida

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias aerobias	<i>Enterobacterias (Escherichia coli, Proteus spp., Klebsiella spp., etc)</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Enterococcus spp.</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Eikenella corrodens</i> <i>Achromobacter spp.</i> <i>Pasteurella multocida.</i> <i>Bacillus anthracis</i> ¹ <i>Nocardia spp.</i> ¹ <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> ¹
Bacterias anaerobias	<i>Bacteroides spp.</i> <i>Clostridium spp.</i> <i>Prevotella spp.</i> <i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Fusobacterium spp.</i> <i>Actinomyces spp.</i> <i>Actinotignum spp.</i>
Hongos ²	<i>Candida spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i> ¹ <i>Mucor spp.</i> ¹
Micobacterias ³		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ¹ Micobacterias atípicas ¹

¹Muy infrecuente. Cuando exista sospecha se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología. Requiere medios y/o condiciones de cultivo especiales.

²Si existe sospecha de infección fúngica se solicitará cultivo específico de hongos.

³Si existe sospecha de infección por micobacterias se solicitará cultivo específico.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

A. Aspiración con aguja

- Es el procedimiento de mayor rendimiento diagnóstico y por lo tanto debe realizarse siempre que sea posible.
- Lavar la superficie de la herida.
- Recoger el pus con jeringa y aguja aspirando preferentemente de zonas profundas o de los bordes.
- Si la muestra es insuficiente o no existe pus, inyectar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y aspirarlo nuevamente con la jeringa.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril.
- No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.

B. Frotis con torunda

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

C. Biopsia

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

A. Aspirados con agujas

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

B. Torundas

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

C. Biopsias

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

- Es recomendable indicar en la petición la localización y los antecedentes relacionados con la herida: traumatismos, mordeduras (humanas o por animales), quemaduras, contacto con agua o carne, diabetes, etc.
- Si existe sospecha de infección por *Bacillus anthracis*, se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología de forma inmediata.

6.6. Exudado de úlcera vascular

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una úlcera vascular

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias aerobias	<i>Enterobacterias (Escherichia coli, Proteus spp., Klebsiella spp., etc)</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus viridans</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Enterococcus spp.</i>	<i>Aeromonas spp.</i> <i>Bacillus anthracis</i> ¹ <i>Nocardia spp.</i> ¹
Bacterias anaerobias	<i>Bacteroides spp.</i> <i>Clostridium spp.</i>	<i>Prevotella spp.</i> <i>Peptostreptococcus spp.</i>
Hongos ²	<i>Candida spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i> ¹ <i>Mucor spp.</i> ¹

¹Muy infrecuente. Cuando exista sospecha se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología. Requiere medios y/o condiciones de cultivo especiales.

²Si existe sospecha de infección fúngica se solicitará cultivo específico de hongos.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

A. Aspiración con aguja

- Es el procedimiento de mayor rendimiento diagnóstico y por lo tanto debe realizarse siempre que sea posible.
- Lavar la superficie de la herida.
- Recoger el pus con jeringa y aguja aspirando de zonas profundas o de los bordes.
- Si la muestra es insuficiente o no existe pus, inyectar suero fisiológico estéril o solución de Ringer lactato estéril y aspirarlo nuevamente con la jeringa.
- Transferir el contenido a un contenedor estéril.
- No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.

B. Frotis con torunda

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

A. Aspirados con agujas

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

B. Torundas

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Para la correcta interpretación del cultivo bacteriano, se recomienda especificar en la petición la localización anatómica de la muestra y las características que presenta.
- Si existe sospecha de infección por *Bacillus anthracis*, se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología de forma inmediata.

7. MUESTRAS DE PIEL Y FANERAS

7.1. Pelo

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco.
- Cultivo de hongos dermatofitos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un pelo

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Hongos dermatofitos ¹	<i>Microsporum canis</i> <i>Trichophyton tonsurans</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Trichophyton violaceum</i> <i>Microsporum audouinii</i> <i>Trichophyton verrucosum</i> <i>Trichophyton schoenleinii</i> <i>Trichophyton terrestre</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>

¹Se investigan de forma rutinaria.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

- Dependiendo del tipo de lesión observada, los pelos pueden recogerse mediante diferentes técnicas:

A. Tiñas microspóricas (*Microsporum canis*)

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

B. Tiñas tricofíticas antropofílicas (*Trichophyton tonsurans*)

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

C. Tiñas tricofíticas zoofílicas (*Trichophyton mentagrophytes*)

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

D. Tiña favosa (*Trichophyton schoenleinii*)

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

Volumen o cantidad necesaria

- Es suficiente una mínima cantidad de pelos afectados.

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

-

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

7.2. Raspado cutáneo

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un raspado cutáneo

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Hongos no dermatofitos ¹	<i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida krusei</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida dublinensis</i>
Hongos dermatofitos ¹	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Microsporum canis</i> <i>Trichophyton tonsurans</i>	<i>Trichophyton terrestre</i> <i>Trichophyton rubrum</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>

¹Se investigan de forma rutinaria.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la lesión con alcohol.
- En las muestras de piel se recomienda si la lesión es seca raspar el borde de la lesión con un bisturí o moqueta, recogiendo las escamas en una placa de Petri o en un contenedor estéril.
- En las lesiones intertriginosas (axilas, pliegues inguinales, etc) pueden obtenerse escamas raspando con un bisturí.
- Si la lesión es exudativa se puede frotar con una torunda con medio de transporte.
- Si se sospecha de pitiriasis versicolor, adherir cinta adhesiva de varias zonas de la piel para observación directa al microscopio. Se puede raspar varias lesiones sobre placa de Petri.

Volumen o cantidad necesaria

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

7.3. Uña

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco.
- Cultivo de hongos.

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una uña

Onicomycosis	Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Distal y lateral subungueal	Hongos ¹	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Scytalidium dimidiatum</i> <i>Scopulariopsis spp.</i>
Proximal subungueal	Hongos ¹	<i>Candida spp.</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	
Blanca superficial	Hongos ¹	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Fusarium spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i>
Distal y lateral con paroniquia crónica	Hongos ¹	<i>Candida spp.</i>	
Distrófica total	Hongos ¹	<i>Candida spp.</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	

¹Se investigan de forma rutinaria.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria

- Es variable dependiendo del lugar afectado.

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

- No enviar la uña.
- Se deben evitar los hisopos, siempre que el tipo de lesión lo permita.

- No es recomendable refrigerar las muestras. El frío puede inhibir el crecimiento de los hongos dermatofitos.

Observaciones

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

8. MUESTRAS DE HECES

8.1. Heces

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en las heces

Microorganismos	Diarrea no inflamatoria ¹	Diarrea inflamatoria ²
Bacterias	<i>Aeromonas</i> spp. <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Escherichia coli</i> (enterotoxigénico, enteropatógeno)	<i>Campylobacter</i> spp. <i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Clostridioides difficile</i> <i>Escherichia coli</i> (enterohemorrágico o enteroinvasivo) <i>Aeromonas</i> spp <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Vibrio</i> spp. ³
Virus	Rotavirus ⁴ Norovirus ⁴ Astrovirus ⁴	Adenovirus ⁴
Parásitos	<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium parvum</i> ⁵ <i>Blastocystis hominis</i> ⁶	<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Strongyloides stercoralis</i>

¹Diarrea líquida con deposiciones abundantes sin sangre y curso afebril.

²Deposiciones frecuentes y poco voluminosas, a menudo con fiebre. La diarrea puede contener sangre o moco.

³No se investiga de forma rutinaria. Si existe sospecha (consumo previo de pescado crudo o poco cocinado) se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología. Requiere medios y/o condiciones de cultivo especiales.

⁴Se investigan en niños menores de 5 años mediante técnicas de detección antigénica.

⁵Si existe sospecha (gastroenteritis en niños, ancianos, sida), contactar con el laboratorio de microbiología. Se diagnostica mediante tinción de Kinyoun, auramina o detección antigénica.

⁶Sólo tiene significado clínico en casos de infestación masiva y sintomatología compatible.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- Heces formadas o pastosas: con una cucharilla se recogerán una pequeña porción de heces recién emitidas en un contenedor estéril con cierre hermético. Se elegirán aquellas porciones que contengan sangre, moco o pus.
- Heces líquidas: de igual modo se transferirán a un contenedor estéril con cierre hermético.

Volumen o cantidad necesaria

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

Número de muestras y momento de la extracción

- Para el estudio bacteriológico, virológico y de toxinas de *C. difficile* es suficiente una muestra.
- Para el estudio parasitológico se recogerá la primera muestra de heces emitida en el día. Se enviarán 3 muestras recogidas en 3 días consecutivos.
- La muestra se recogerá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- Las muestras deben enviarse al laboratorio lo antes posible.

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

- En caso de brotes, es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología de forma inmediata.
- La serología tiene escasa utilidad para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales. Puede estar indicado cuando exista sospecha de infección por *Yersinia enterocolitica* y *Entamoeba histolytica*.
- Se debe evitar el uso de torundas.

8.2. Test de Graham

Procedimiento microbiológico más habitual

- Examen en fresco para la visualización de huevos.

Microorganismos que pueden observarse

- *Enterobius vermicularis* (oxiuros).

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria

- Tres portaobjetos de cristal tomados en 3 días consecutivos.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recogerán 3 muestras de 3 días consecutivos.
- Por la noche la hembra del parásito deposita los huevos en los márgenes del ano, por lo que la toma se realizará a primera hora de la mañana.

- La persona que realice la toma de muestra debe lavarse las manos antes y después de la toma, ya que los huevos son muy infectivos.

Transporte y conservación de las muestras

- Se enviarán los portaobjetos en el interior de un sobre al laboratorio de microbiología.

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

9. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO

9.1. Exudado endocervical

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR genital (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, etc).
- PCR de virus (VHS, VPH)

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado endocervical

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ¹ <i>Chlamydia trachomatis</i> ^{2,3}	<i>Mycoplasma genitalium</i> ^{2,3} <i>Ureaplasma urealyticum</i> ^{2,3} <i>Mycoplasma hominis</i> ^{2,3}
Hongos	<i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i>	<i>Candida krusei</i>
Virus ^{2,4}	Virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH 16, 18) Virus herpes simple	Virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico (VPH 6, 11)

¹Se investiga de forma rutinaria mediante cultivo. Utilizar torunda de algodón con medio (gel).

²No se investiga de forma rutinaria. La identificación requiere PCR. Contactar con el laboratorio de microbiología.

³Recoger la muestra con torunda de dacron o medio de transporte para PCR. Si no están disponibles, utilizar torunda de algodón con gel pero la sensibilidad es menor.

⁴Recoger la muestra con medio especial de transporte para virus. Si no está disponible, utilizar torunda de algodón con gel pero la sensibilidad es menor.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torunda de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano).

- Torunda de dacron o medio de transporte para PCR según disponibilidad (PCR genital)
- Medio de transporte para virus (PCR virus).
- El medio de transporte Amies líquido es compatible con todas las determinaciones.

Técnica para obtener la muestra

- Introducir un espéculo sin lubricante con la paciente en posición ginecológica.
- Limpiar las secreciones vaginales del exocérvix con una torunda seca de algodón.
- Bajo visión directa se comprimirá cuidadosamente el cérvix con las palas del espéculo y se introducirá la torunda de dacron en el canal endocervical, rotándola en su interior.
- Extraer la torunda sin tocar los bordes e introducirla en el tubo con medio de transporte.
- Para la detección de virus, la torunda se introducirá en el medio de transporte específico para virus. En caso de no disponer, se deberá enviar la torunda al laboratorio de microbiología con la mayor rapidez posible.

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una torunda con gel para cultivo bacteriano y de hongos.
- Si existe sospecha de infección por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominia* y *Ureaplasma urealyticum* se enviará muestra independiente para PCR.
- Si existe sospecha de infección por virus se enviará otra torunda independiente para PCR.
- La muestra debe obtenerse antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

- La viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* es muy limitada y no puede garantizarse transcurridas 6-8 horas.
- El virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico es la causa del cáncer de cuello de útero.
- El virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico produce verrugas genitales (condiloma acuminado). Su presencia en endocervix es infrecuente y de difícil diagnóstico.

9.2. Exudado rectal/anal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano.
- Cultivo de hongos (perianal)
- PCR de virus (solo si hay lesiones compatibles)
- Estudio de portadores de bacterias multirresistentes.

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

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus agalactiae</i> ¹	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ² <i>Treponema pallidum</i> ³
Hongos	<i>Candida</i> spp. ⁴	
Virus ⁵	Virus herpes simple Virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH 16, 18)	Virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico (VPH 6, 11)

¹En mujeres embarazadas se investiga de forma rutinaria en el tercer trimestre de gestación (estudio de portadoras).

²No se investiga de forma rutinaria mediante cultivo. Si existe sospecha es recomendable ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología.

³Solicitar serología. Existe la posibilidad de realizar PCR de *T. pallidum* si existe chancro anal o rectal. Contactar con el laboratorio de microbiología.

⁴Se asocia a candidiasis perianal. Si existe sospecha solicitar cultivo específico de hongos.

⁵La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Su detección requiere PCR. Si existe sospecha se debe contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial de transporte para virus.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos).
- Medio de transporte para virus.

Técnica para obtener la muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una muestra para cultivo bacteriano y de hongos.
- Si existe sospecha de infección por virus se enviará otra torunda independiente.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

9.3. Exudado uretral femenino

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco (*Trichomonas vaginalis*).
- Tinción de Gram
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR genital (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, etc).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado uretral

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ¹ <i>Chlamydia trachomatis</i> ²	<i>Neisseria meningitidis</i> ¹ <i>Mycoplasma genitalium</i> ² <i>Ureaplasma urealyticum</i> ² Enterobacterias ³ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ³ <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Treponema pallidum</i> ⁴
Hongos		<i>Candida</i> spp. ³
Parásitos		<i>Trichomonas vaginalis</i> ⁵
Virus ⁶		Virus del papiloma humano Virus herpes simple

¹Se investiga de forma rutinaria mediante cultivo.

²No se investiga de forma rutinaria. La identificación requiere PCR. Se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio de microbiología.

³Su aislamiento no indica necesariamente la existencia de uretritis.

⁴Solicitar serología. Existe la posibilidad de realizar PCR si existe chancro. Contactar con el laboratorio de microbiología.

⁵Infrecuente. Se asocia con mayor frecuencia a vaginitis.

⁶La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Su detección requiere PCR. Si existe sospecha se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial de transporte para virus.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una torunda para cultivo bacteriano y de hongos.
- Si existe sospecha de uretritis por *Trichomonas vaginalis* puede ser de utilidad recoger una muestra de exudado vaginal para realizar examen en fresco.
- Si existe sospecha de infección por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* o *Ureaplasma urealyticum* se enviará otra muestra independiente para PCR.
- Si existe sospecha de infección por virus se enviará otra torunda independiente para PCR.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- La muestra debe recogerse antes de la primera micción de la mañana. Si no es posible, se deberá esperar al menos una hora tras la última micción para recogerla.
- La viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae* es limitada y no puede garantizarse transcurridas 6-8 horas.
- Los bacilos gramnegativos (enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*) producen uretritis en enfermos sondados, inmunodeprimidos, diabéticos, homosexuales y enfermos con patologías urológicas (estenosis).
- El diagnóstico de la uretritis candidiásica es difícil de realizar porque *Candida* spp. puede aislarse en la uretra de mujeres sanas. La observación de pseudomicelios en la tinción de Gram es un criterio de patogenicidad.
- Un chancro luético en la uretra puede simular una uretritis.
- La infección uretral por el virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico se asocia a verrugas en la uretra distal (condiloma acuminado).
- La infección uretral por el virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico es muy infrecuente en mujeres.

9.4. Exudado vaginal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco (*Trichomonas vaginalis*).
- Tinción de Gram (vaginosis bacteriana).
- Cultivo bacteriano aerobio (en niñas).
- Cultivo de hongos.
- PCR genital (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, etc).
- PCR de virus (VHS, VPH).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado vaginal

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias ¹	<i>Streptococcus pyogenes</i> ^{2,3} <i>Haemophilus influenzae</i> ² <i>Streptococcus pneumoniae</i> ² <i>Streptococcus agalactiae</i> ⁴	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> ² <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ⁶ <i>Chlamydia trachomatis</i> ⁶ <i>Mycoplasma genitalium</i> ⁶
Flora bacteriana polimicrobiana aerobia y anaerobia (vaginosis bacteriana) ¹	<i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Prevotella</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp.	<i>Mobiluncus</i> spp.
Hongos	<i>Candida</i> spp. ^{1,4}	
Parásitos	<i>Trichomonas vaginalis</i> ¹	
Virus ⁵		Virus del papiloma humano Virus herpes simple

¹Se investiga de rutina mediante cultivo.

²Produce vaginitis en niñas. La incidencia en mujeres adultas es menor.

³Puede asociarse al síndrome del shock tóxico.

⁴Puede haber mujeres portadoras asintomáticas. Su presencia no indica necesariamente infección.

⁵La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Su detección requiere PCR. Si existe sospecha de infección viral se debe contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial de transporte para virus.

⁶La detección en exudado vaginal es infrecuente. Es preferible recoger exudado endocervical y solicitar PCR.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torunda de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos)
- Torunda de dacron o medio de transporte para PCR según disponibilidad (PCR genital)
- Medio de transporte para virus (PCR).

Técnica para obtener la muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

- Se recomienda una torunda para realizar tinción de Gram, cultivo bacteriano (en niñas) y de hongos.
- Si se solicita PCR genital, se debe enviar torunda independiente.
- Si existe sospecha de infección por virus se enviará otra torunda independiente para PCR.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- En los días previos a la obtención de la muestra no deben utilizarse soluciones antisépticas, óvulos o pomadas. Si se han utilizado, se hará constar en la petición.

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

9.5. Exudado vulvar

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR de úlcera genital (*Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*).
- PCR de virus (VHS, VPH).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado vulvar

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Treponema pallidum</i> ¹ <i>Haemophilus ducreyi</i> ²
Hongos	<i>Candida</i> spp.	
Virus ³	Virus herpes simple Virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico (VPH 6, 11)	Virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH 16, 18)

¹Solicitar serología. Existe la posibilidad de realizar PCR si existe chancro. Contactar con el laboratorio de microbiología.

²Muy infrecuente. Su detección requiere PCR. Se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología.

³La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Su detección requiere PCR. Si existe sospecha de infección viral se debe contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial de transporte para virus.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Camilla ginecológica.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Agua estéril.
- Jeringa y aguja estéril.
- Torunda de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos).
- Torunda de dacron o medio de transporte para PCR según disponibilidad (PCR de úlcera genital)
- Medio de transporte para virus (PCR).

Técnica para obtener la muestra

- Utilizar alcohol para desinfectar la piel y agua estéril para las mucosas.
- Realizar frotis de las lesiones.
- Si hay abscesos, aspirar con una jeringa e inocular el contenido en un contenedor estéril. Se debe evitar mandar jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- En los días previos a la obtención de la muestra no deben utilizarse soluciones antisépticas o pomadas. Si se han utilizado, se hará constar en la petición.
- La infección vulvar por el virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico produce verrugas genitales (condiloma acuminado).
- La infección vulvar por el virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico se asocia a cáncer vulvar (infrecuente).

9.6. Úlcera genital

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano y de hongos
- Serología (sífilis)
- PCR de úlcera genital (*Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *C. trachomatis* L1 L2 L3)
- PCR de virus (VHS, CMV, VVZ).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una úlcera genital

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Treponema pallidum</i> ¹	<i>Haemophilus ducreyi</i> ² <i>Chlamydia trachomatis</i> serogrupo L1, L2, L3 ² (linfogramuloma venéreo)
Virus ³	Virus herpes simple	Citomegalovirus Virus varicela zóster

¹Solicitar serología. Existe la posibilidad de realizar PCR si existe chancro. Contactar con el laboratorio de microbiología.

²Su detección requiere PCR. Se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología.

³La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Su detección requiere técnicas de PCR. Si existe sospecha de infección viral se debe contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial de transporte para virus.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Guantes y gasas estériles.
- Suero salino estéril.
- Pipeta Pasteur.
- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Jeringa con aguja estéril.
- Torunda de algodón con medio de transporte de Stuart-Aimes (cultivo bacteriano y de hongos).
- Torunda de dacron o medio de transporte para PCR según disponibilidad (PCR genital).
- Medio de transporte para virus (PCR virus).

Técnica para obtener la muestra para cultivo bacteriano y de hongos

- El cultivo bacteriano está indicado si existe sospecha de sobreinfección bacteriana o por *Candida* spp.
- Se limpiará la superficie de la lesión con gasas humedecidas con suero salino. Se evitarán jabones.
- Con una gasa seca se frota suavemente la lesión hasta que se obtenga el fluido.
- Aspirar el fluido con una jeringa y aguja estéril. Introducir contenido en contenedor estéril.
- Si no es posible, se utilizará una torunda con medio de transporte. El rendimiento de las muestras recogidas con torunda es menor.

Técnica para obtener la muestra para PCR

- Limpiar superficie.
- Frotar la úlcera con torunda de dacron.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano y de hongos es suficiente una muestra.
- Para PCR de la úlcera se enviará una muestra independiente
- Para estudio de virus se enviará otra muestra independiente para PCR.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará junto a la duración del mismo.
- La realización de un examen en campo oscuro para detectar *Treponema pallidum* tiene baja sensibilidad y debe hacerse inmediatamente después de recoger la muestra. Técnica en desuso.

10. MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL MASCULINO

10.1. Exudado rectal/anal

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Cultivo bacteriano (*Neisseria gonorrhoeae*)
- Cultivo de hongos (perianal).
- PCR de virus (si existen lesiones compatibles).
- Estudio de portadores de bacterias multirresistentes.

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

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias		<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ¹ <i>Treponema pallidum</i> ²
Hongos	<i>Candida spp</i> ³	
Virus ⁴	Virus herpes simple Virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH 16, 18)	Virus del papiloma humano de bajo riesgo oncogénico (VPH 6, 11)

¹No se investiga de forma rutinaria mediante cultivo. Si existe sospecha es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología.

²Solicitar serología. Existe la posibilidad de realizar PCR si existe chancro. Contactar con el laboratorio de microbiología.

³Se asocia a candidiasis perianal. Si existe sospecha solicitar cultivo específico de hongos.

⁴La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Su detección requiere PCR. Si existe sospecha se debe contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial para virus.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Torunda de algodón con medio de transporte de Stuart-Amies (cultivo bacteriano y de hongos).
- Medio de transporte para virus.

Técnica para obtener la muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

10.2. Exudado uretral masculino

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco (*Trichomonas vaginalis*).
- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR genital (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, etc).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en un exudado uretral

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> ¹ <i>Mycoplasma genitalium</i> ¹ <i>Ureaplasma urealyticum</i> ¹	<i>Neisseria meningitidis</i> Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc) ² <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ² <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Mycoplasma hominis</i> ¹ <i>Treponema pallidum</i> ³
Hongos		<i>Candida</i> spp. ²
Parásitos		<i>Trichomonas vaginalis</i> ⁴
Virus ⁵		Virus del papiloma humano Virus herpes simple

¹No se investiga de forma rutinaria. La identificación puede realizarse por PCR. Si existe sospecha de infección se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología.

²Su aislamiento no indica necesariamente la existencia de uretritis.

³Solicitar serología. Existe la posibilidad de realizar PCR si existe chanco. Contactar con el laboratorio de microbiología.

⁴También puede detectarse en el examen en fresco de orina.

⁵La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Su detección requiere de técnicas de PCR. Si existe sospecha se debe contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial de transporte para virus.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

- La muestra debe recogerse antes de la primera micción de la mañana. Si no es posible, se deberá esperar al menos dos horas tras la última micción para recogerla.
- Se recomienda una torunda para cultivo bacteriano y de hongos.
- Si existe sospecha de infección por *Trichomonas vaginalis* puede ser de utilidad recoger una muestra de orina para realizar examen en fresco.
- Si existe sospecha de infección por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* o *Ureaplasma urealyticum* se enviará otra muestra independiente para PCR.
- Si existe sospecha de infección por virus se enviará otra torunda independiente con medio de transporte específico para PCR.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

10.3. Úlcera genital

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano y de hongos
- Serología (sífilis)
- PCR de úlcera genital (*Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *C. trachomatis* L1, L2, L3).
- PCR de virus (VHS, CMV, VVZ).

Microorganismos con significado clínico que pueden aislarse en una úlcera genital

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Treponema pallidum</i> ¹	<i>Haemophilus ducreyi</i> ² <i>Chlamydia trachomatis</i> serogrupo L1, L2 L3 ² (linfogramuloma venéreo)
Virus ³	Virus herpes simple	Citomegalovirus Virus varicela zóster

¹Su detección requiere de serología o PCR (si existe chancro).

²Su detección requiere PCR. Se recomienda contactar con el laboratorio de microbiología.

³La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Su detección requiere de técnicas de PCR. Si existe sospecha se debe contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial de transporte para virus.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra para cultivo bacteriano o de hongos

- El cultivo bacteriano está indicado si existe sospecha de sobreinfección bacteriana o por *Candida* spp.
- Se limpiará la superficie de la lesión con gasas humedecidas con suero salino. Se evitará jabones.
- Con una gasa seca se frotará suavemente la lesión hasta que se obtenga el fluido.
- Aspirar el fluido con una jeringa y aguja estéril. Introducir el contenido en contenedor estéril.
- Si no es posible, se utilizará una torunda con medio de transporte. El rendimiento de las muestras recogidas con torunda es menor.

Técnica para obtener la muestra para PCR

- Limpiar la superficie.
- Frotar la úlcera con una torunda seca de dacron.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano y de hongos es suficiente una muestra.
- Para PCR de úlcera se enviará otra muestra independiente.
- Para estudio de virus se enviará otra torunda independiente para PCR.
- Las muestras se obtendrán antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- La realización de examen en campo oscuro para detectar *Treponema pallidum* tiene baja sensibilidad y debe hacerse inmediatamente después de recoger la muestra. Técnica en desuso.

10.4. Semen

Muestra

- El semen es una muestra de bajo rendimiento microbiológico. Es aconsejable limitar su utilización al diagnóstico de prostatitis y debe realizarse cultivo de orina de forma conjunta. Ver comentarios en “observaciones”.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Examen en fresco (*Trichomonas vaginalis*).
- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.
- Cultivo de hongos.
- PCR genital (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, etc).

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

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> ¹ , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ²	<i>Staphylococcus aureus</i> ² <i>Enterococcus</i> spp. <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> ³ <i>Mycoplasma genitalium</i> ³ <i>Ureaplasma urealyticum</i> ^{3,4}
Hongos		<i>Candida</i> spp. ⁵
Parásitos		<i>Trichomonas vaginalis</i>

¹Constituye la causa más frecuente de prostatitis.

²Produce con mayor frecuencia prostatitis en enfermos sondados.

³No se investiga de forma rutinaria. Su detección requiere PCR (en semen u orina). Si existe sospecha es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología.

⁴Su implicación en la prostatitis es dudosa.

⁵Con mayor frecuencia produce prostatitis en diabéticos, especialmente tras instrumentación de la vía urinaria.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente una muestra.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.
- Transporte y conservación de las muestras
- Las muestras se deben enviar al laboratorio de microbiología de forma urgente, especialmente si se sospecha infección por *Neisseria gonorrhoeae*.
- Las muestras para examen en fresco, cultivo bacteriano y de hongos se mantendrán a 37°C y si no es posible, a temperatura ambiente (máximo 24 horas).
- Las muestras para PCR se mantendrán refrigeradas (máximo 72 horas).

Muestras inadecuadas

- No se aceptarán las muestras para cultivo bacteriano y de hongos que se obtengan mediante torunda sin gel o en condiciones no estériles.

Observaciones

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

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

11. LÍQUIDOS BIOLÓGICOS NORMALMENTE ESTÉRILES

11.1. Líquido sinovial

Procedimientos microbiológicos más habituales

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

Microorganismo con significado clínico que pueden aislarse en un líquido sinovial

Artritis	Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Menor de 5 años	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp. <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b	<i>Neisseria meningitidis</i> <i>Salmonella</i> spp. Enterobacterias <i>Kingella kingae</i>
5- 60 años (Sin inmunosupresión)	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Brucella</i> spp. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
	Micobacterias ¹		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Mayor de 60 años (Prótesis, herida penetrante, inmunosupresión, UDVP, con comorbilidad)	Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> Bacilos gramnegativos <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Nocardia</i> spp.
	Hongos ²		<i>Candida</i> spp.
	Micobacterias ¹		<i>Mycobacterium</i> spp.

¹Si existe sospecha de infección por micobacterias se solicitará cultivo específico.

²Si existe sospecha de infección fúngica se solicitará cultivo específico de hongos.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- Desinfectar la superficie cutánea con una gasa estéril impregnada en alcohol, limpiando la zona de forma concéntrica comenzando por el centro y abarcando una zona de unos 10 cm.
- Repetir la operación con povidona yodada. En pacientes con hipersensibilidad al yodo se utilizará alcohol 2 veces consecutivas.
- Dejar secar al menos 1 minuto.
- Realizar una punción aspiración del líquido sinovial con la jeringa y aguja.
- Inocular el contenido en un contenedor estéril. No se recomienda el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda recoger un volumen de 1–5 ml.
- Para estudio de aerobios y anaerobios: 1-5 ml.
- Para estudio de hongos: 10 ml.
- Para estudio de micobacterias: 10 ml.

Número de muestras y momento de la extracción

- Para cultivo bacteriano es suficiente una muestra.
- Para estudio adicional de hongos se obtendrá una muestra independiente.
- Para estudio adicional de micobacterias se obtendrá otra muestra independiente.
- La muestra se obtendrá antes de iniciar el tratamiento.

Transporte y conservación de las muestras

- La muestra se enviará al laboratorio de microbiología lo antes posible.
- Las muestras para cultivo bacteriano se conservarán refrigeradas a 2-8 °C (máximo 24 horas).
- Las muestras para cultivo de hongos se conservarán a temperatura ambiente (máximo 24 horas).
- Las muestras para cultivo de micobacterias se conservarán refrigeradas a 2-8 °C (máximo 24 horas).

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- Si el enfermo ha recibido tratamiento previo, se indicará en la petición junto a la duración del mismo.
- Indicar la localización anatómica de la muestra.
- Si existe sospecha de infección por microorganismos altamente patógenos (e.j., *Neisseria gonorrhoeae* o *Brucella* spp), debe comunicarse al laboratorio de microbiología de forma inmediata.
- Los hemocultivos son positivos en más del 50% de artritis sépticas no gonocócicas.
- El rendimiento del líquido sinovial para cultivo de micobacterias es bajo. El rendimiento es mayor si se cultiva la membrana sinovial (biopsia). Debe enviarse en un contenedor estéril con suero fisiológico estéril. Puede conservarse refrigerada a 4°C durante un máximo de 72 horas.

12. SANGRE PARA SEROLOGÍA Y DETECCIÓN DE ADN/ARN

12.1. Suero

Muestra

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

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Detección de anticuerpos.
- Detección de antígenos: generalmente son pruebas no incluidas en el catalogo de Atención Primaria (excepto la detección de HBsAg). Para casos concretos es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología.

Aplicaciones de la determinación de anticuerpos

Diagnóstico de infección	Comentarios
Estudio del estado inmunitario	Ejemplos: control de embarazo, control posvacunación hepatitis B, estudios epidemiológicos, etc.

Tipos de anticuerpos estudiados habitualmente

Anticuerpos	Comentarios
IgM	<ul style="list-style-type: none">- Se relaciona habitualmente con infección aguda, pero en algunas infecciones se correlaciona no sólo con la fase temprana de la enfermedad sino también con la actividad de la misma en estadios crónicos.- Se precisa como mínimo de 7 a 10 días desde la exposición para poder tener una concentración mínima detectable.- En determinadas infecciones persisten detectables durante periodos prolongados por lo que su utilidad debe ser evaluada para cada agente infeccioso y en el contexto de las manifestaciones clínicas.

IgG	<ul style="list-style-type: none"> - En general, alcanzan niveles máximos a las 4-6 semanas después de la exposición, persistiendo de por vida. - Para diagnóstico se requiere el procesamiento de dos sueros en paralelo, uno tomado en la fase aguda de la enfermedad y otro 3-4 semanas más tarde, durante la convalecencia. Un aumento de 4 veces en el título se considera evidencia de infección reciente.
Anticuerpos totales	IgM + IgG

Infecciones diagnosticadas habitualmente mediante serología

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

Perfiles serológicos más habituales

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

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- Utilizar guantes.
- Corroborar la identidad del paciente antes de la extracción.

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

12.2. Plasma

Muestra

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

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Detección de anticuerpos. La mayoría de las técnicas utilizadas permiten la detección de anticuerpos en suero o plasma indistintamente, utilizando EDTA como anticoagulante, pero en general se suele realizar en suero.
- Detección de antígenos: generalmente son pruebas no incluidas en el catálogo de Atención Primaria (excepto la detección de HBsAg). Para casos concretos es recomendable contactar con el laboratorio de microbiología.
- Estudio de cargas virales: generalmente son pruebas no incluidas en el catálogo de Atención Primaria, pero a los Centros de Salud acuden a extracciones pacientes con solicitudes realizadas por otros especialistas.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

- Preferiblemente en ayunas para evitar lipemia.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

12.3. Sangre total

Muestra

- Sangre completa.

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Detección de ácidos nucleicos.
- Detección de antígenos.
- Visualización de parásitos.
- Generalmente son pruebas no incluidas en el catálogo de Atención Primaria. Salvo la detección de ácidos nucleicos, el resto de pruebas se realizan en el ámbito de ingreso hospitalario o Urgencias.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

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

Número de muestras y momento de la extracción

- Preferiblemente en ayunas para evitar lipemia.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

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

13. OTRAS MUESTRAS

13.1. Vesículas

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.

Microorganismos que pueden aislarse en una vesícula

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , etc) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Virus ¹	Virus varicela zoster Virus herpes simple	

¹La detección de virus no se realiza de forma rutinaria. Si existe sospecha de infección viral se debe contactar con el laboratorio de microbiología y solicitar medio especial de transporte para virus. Su detección requiere PCR.

Material necesario para realizar la toma de muestra

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

Técnica para obtener la muestra

- Limpiar la piel con alcohol 70°C y desinfectar con povidona iodada dejando secar 60 segundos.
- Punzar el sitio elegido e inocular la muestra en un contenedor estéril con tapa de rosca. Se debe evitar el envío de jeringas con agujas por el riesgo de pinchazos.

- Si no se obtiene material por este procedimiento, inyectar 0.5-1ml. de solución fisiológica estéril y aspirar nuevamente.
- Para estudio de virus debe realizarse la toma de la lesión de la misma manera, transfiriendo la muestra en el medio de transporte de virus.
- Para el diagnóstico directo realizar una impronta tomada directamente de la lesión con un portaobjetos.

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Se recomienda obtener la mayor cantidad posible.

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

- Las muestras que no cumplan las condiciones descritas anteriormente.

Observaciones

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

13.2. Pestañas

Procedimiento microbiológico más habitual

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

Microorganismos con significado clínico que pueden observarse

- *Demodex folliculorum* o *Phthirus* spp.

Material necesario para realizar la toma de la muestra

- Contenedor estéril con cierre hermético y pinzas estériles.

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria

- Es suficiente una mínima cantidad.

Número de muestras y momento de la extracción

- Es suficiente el envío de una muestra.

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

- Las muestras que no cumplan las condiciones descritas anteriormente.

Observaciones

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

13.3. Leche materna

Procedimientos microbiológicos más habituales

- Tinción de Gram.
- Cultivo bacteriano aerobio.

Microorganismos que pueden aislarse en la leche materna

Microorganismos	Frecuentes	Menos frecuentes
Bacterias	Staphylococcus coagulasa negativos (<i>S. epidermidis</i>) ^{1,2} <i>Staphylococcus aureus</i> ³ <i>Streptococcus viridans</i> ²	<i>Enterococcus</i> spp. <i>S. agalactiae</i> <i>S. pyogenes</i> <i>Micrococcus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp.

¹Causa más frecuente de mastitis lactacional, sobre todo *Staphylococcus epidermidis*.

²Se asocian a mastitis lactacional subaguda

³Se asocian a mastitis lactacional aguda.

Material necesario para realizar la toma de muestra

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

Técnica para obtener la muestra

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

Volumen o cantidad necesaria de muestra

- Es suficiente con 1 ó 2 mL

Número de muestras y momento de la extracción

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

Transporte y conservación de las muestras

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

Muestras inadecuadas

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

Observaciones

- La leche materna no es estéril. La mastitis lactacional se debe a proliferación de bacterias de la leche (estafilococos y estreptococos en mayor medida). Estas bacterias no deben considerarse como contaminantes cuando crezcan en cultivo con recuentos significativos.
- El aislamiento de bacilos gram negativos o *Candida* spp debe hacer sospechar de contaminación de la muestra por recogida inadecuada.