

**MANUAL DE TOMA DE MUESTRAS PARA
ESTUDIO BACTERIOLÓGICO, PARASITOLÓGICO
Y MICOLÓGICO**

**SELECCIÓN, RECOLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y
TRANSPORTE**

**DEPARTAMENTO DE LABORATORIO CLÍNICO
REPARTICIÓN MICROBIOLOGÍA
HOSPITAL DE CLÍNICAS
FACULTAD DE MEDICINA
MONTEVIDEO - URUGUAY 2004**

ÍNDICE

Prólogo

SECCIÓN BACTERIOLOGÍA

- **INSTRUCTIVO- NORMAS BÁSICAS GENERALES**

1 MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO

1.1 MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

1.1.1 Exudado faringeo

1.1.2 Cavidad orofaríngea

1.1.3 Senos paranasales

1.1.4 Exudado nasal

1.1.5 Muestras de oído

1.1.5.1 Conducto auditivo externo

1.1.5.2 Oído medio - Timpanocentesis

1.1.6 Muestras oculares

1.1.6.1 Exudado conjuntival

1.1.6.2 Raspados corneales

1.2 MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

1.2.1 Expectoración

1.2.2 Aspirado Traqueal o Secreciones Traqueales

1.2.3 Punción Transtraqueal

1.2.4 Muestras obtenidas a través del Fibrobroncoscopio

1.2.4.1 Broncoaspirado

1.2.4.2 Cepillado bronquial con catéter protegido

1.2.4.3 Lavado bronco-alveolar

1.2.4.4 Biopsia transbronquial

1.2.5 Muestras obtenidas por abordaje percutáneo

1.2.5.1 Punción pulmonar aspirativa transtorácica

1.2.5.2 Punción biopsia pulmonar

1.2.5.3 Biopsia pulmonar con toracoscopio

1.2.5.4 Biopsia pulmonar por toracotomía

2 SANGRE

2.1 HEMOCULTIVOS

2.2 CATÉTERES INTRAVASCULARES

3 MUESTRAS DEL TRACTO URINARIO

- 3.1 UROCULTIVO- Orina obtenida por “Chorro Medio”**
 - 3.1.1 Técnica para mujeres**
 - 3.1.2 Técnica para hombres**
- 3.2 OBTENCIÓN DE ORINA PARA UROCULTIVO EN EL PACIENTE CON SONDA VESICAL**
- 3.3 PUNCIÓN SUPRAPÚBICA**

4 MUESTRAS DE LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

- 4.1 LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO**
 - 4.1.1 LCR por punción lumbar**
 - 4.1.2 LCR en pacientes con shunts ventriculares**
 - 4.1.2.1 LCR obtenido de reservorio subcutáneo, Ommaya**
 - 4.1.2.2 LCR obtenido de circuito de derivación**
- 4.2 OTROS LÍQUIDOS BIOLÓGICOS: PERITONEAL(ASCITIS), PERICARDICO, PLEURAL, ARTICULAR**
- 4.3 LÍQUIDO DE DIÁLISIS PERITONEAL CRÓNICA AMBULATORIA**

5 PIEL Y TEJIDOS BLANDOS

- 5.1 HERIDAS SUPERFICIALES Y ABSCESOS ABIERTOS**
- 5.2 ABSCESOS CERRADOS**
- 5.3 HERIDA QUIRÚRGICA**
- 5.4 QUEMADURAS**

6 MUESTRAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

- 6.1 MATERIAS FECALES**
- 6.2 HISOPOS RECTALES**
- 6.3 MUESTRAS DIGESTIVAS ALTAS**
 - 6.3.1 Lavado gástrico**
 - 6.3.2 Biopsia gástrica antral obtenida por endoscopia**
- 6.4 MUESTRAS DIGESTIVAS BAJAS**

7 MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL

- 7.1 TRACTO GENITAL FEMENINO**
 - 7.1.1 Exudado vaginal**
 - 7.1.2 Exudado endocervical**
 - 7.1.3 Exudado uretral**
 - 7.1.4 Exudado rectal**
 - 7.1.5 Endometrio**
 - 7.1.6 Culdocentésis**
 - 7.1.7 Trompas y ovarios**
 - 7.1.8 Vulva**
 - 7.1.9 Ganglios linfáticos inguinales**
 - 7.1.10 Líquido amniótico**
- 7.2 TRACTO GENITAL MASCULINO**
 - 7.2.1 Exudado uretral**
 - 7.2.2 Muestra para diagnóstico de Prostatitis**
- 7.3 MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE CLAMYDIAS Y MICOPLASMAS UROGENITALES**
 - 7.3.1 Muestras para investigación de Chlamydia trachomatis**
 - 7.3.2 Muestras para investigación de Micoplasmas urogenitales**

- 8 **BIOPSIAS**
- 9 **MUESTRAS PARA ESTUDIO INMUNOLÓGICO DE INFECCIONES BACTERIANAS**
- 10 **MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN DE AGENTES INFECCIOSOS POR TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR**

▣ SECCIÓN PARASITOLOGÍA Y MICOLOGÍA

- INTRODUCCIÓN
- OBJETIVOS

MUESTRAS PARASITOLÓGICAS

- CONCEPTOS GENERALES
- TIPOS DE MUESTRAS MAS USUALES

1. MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO

1.1 MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO DE TRACTO GASTROINTESTINAL

- 1.1.1 Materia fecal
- 1.1.2 Espátula adhesiva
- 1.1.3 Muestras macroscópicas de parásitos entéricos
- 1.1.4 Muestras macroscópicas con pseudoparásitos
- 1.1.5 Sondeo duodenal
- 1.1.6 Aspirado de lesiones intestinales por rectosigmoidoscopia
- 1.1.7 Biopsias de intestino

1.2 MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO DE PIEL

1.3 MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO EN SANGRE

1.4 MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO EN ORINA

1.5 MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO DE SECRECIONES VAGINALES

1.6 MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO DE SECRECIONES BRONQUIALES

1.7 MUESTRAS DE FLÚIDOS BIOLÓGICOS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO

1.8 MUESTRAS PARA CULTIVO PARASITOLÓGICO

1.9 MUESTRAS PARA TREPOINVESTIGACIÓN

2. MUESTRAS PARA ESTUDIO INMUNOLÓGICO DE PARASITOSIS

MUESTRAS MICOLÓGICAS

- **CONCEPTOS GENERALES**
- **TIPOS DE MUESTRAS MAS USUALES**

3. MUESTRAS PARA ESTUDIO MICOLÓGICO

3.1 MUESTRAS PARA ESTUDIO DE MICOSIS SUPERFICIALES

- 3.1.1 Escamas de piel**
- 3.1.2 Uñas**
- 3.1.3 Cuero cabelludo**
- 3.1.4 Lesiones mucosas**
- 3.1.5 Heridas de piel**
- 3.1.6 Secreciones vaginales**
- 3.1.7 Secreciones balano-prepuciales**
- 3.1.8 Lesiones corneales**
- 3.1.9 Conducto auditivo externo**

3.2 MUESTRAS PARA ESTUDIO DE MICOSIS DERMOHIPODÉRMICAS

3.3 MUESTRAS PARA ESTUDIO DE MICOSIS PROFUNDAS

- 3.3.1 Muestras de tracto respiratorio inferior**
 - 3.3.1.1 Expectoración**
 - 3.3.1.2 Lavado bronquioloalveolar**
 - 3.3.1.3 Biopsia de pulmón**
- 3.3.2 Muestras de líquidos biológicos**
 - 3.3.2.1 LCR**
 - 3.3.2.2 Otros líquidos biológicos: pleural, peritoneal, humor acuoso, etc.**
- 3.3.3 Muestras de biopsias: ganglio, hígado, médula ósea, córnea, piel, etc.**
- 3.3.4 Muestras de lesiones de piel**
- 3.3.5 Hemocultivos para hongos**
- 3.3.6 Mielocultivo para hongos**

4. MUESTRAS PARA ESTUDIO INMUNOLÓGICO DE MICOSIS PROFUNDAS

BIBLIOGRAFÍA

PRÓLOGO

El aseguramiento de la calidad según la norma ISO/8402 es el “conjunto de actividades preestablecidas y sistemáticas implantadas en el marco del sistema de calidad, que se ha demostrado son necesarias para dar confianza adecuada de que una entidad satisfará los requisitos para la calidad”, dicha norma aplicada al Laboratorio Clínico según F.J. Gella es el “conjunto de acciones sistemáticas encaminadas a proporcionar la adecuada confianza en los servicios que proporciona el laboratorio para satisfacer las necesidades médicas precisas para la atención al paciente” conceptos tomados en el borrador de la norma ISO/DIS 15189 de Sistema de Calidad en Laboratorio Clínico.

El conjunto de acciones sistemáticas parte desde el pedido del estudio hasta la llegada del informe al médico tratante. Ese amplio tramo de procesos preanalíticos, analíticos y postanalíticos debe ser protocolizado para asegurar procedimientos reproducibles que permitan asegurar la calidad del proceso realizado. Dentro de ese contexto, este manual aporta en el área de la microbiología, sin duda un fuerte respaldo al proceso preanalítico desde la solicitud, la obtención de la muestra, el transporte, registro de criterios de calidad (rechazo) y conservación, que permiten al equipo de salud involucrado en esta etapa tener una referencia normatizada.

La vasta experiencia de los profesionales que elaboraron este manual y la consulta bibliográfica efectuada dan a esta publicación un fuerte respaldo académico y una visión práctica de los procedimientos microbiológicos preanalíticos que sin duda garantizan la información y la formación de los médicos, enfermeras y estudiantes, así como aseguran su manejo con propiedad frente al paciente, fin prioritario de las acciones en el campo de la salud.

Prof. Dr. Walter Alallón

Sección Bacteriología

Profesor Agregado Dra. CRISTINA BAZET UGALDE

Profesor Adjunto Dr. LEONARDO ANZALONE CANTONI

Profesor Adjunto Dr. JULIO BLANCO TOLOZA

Asistente Dra. GRISEL RODRÍGUEZ CUNS

Asistente Dra. VERÓNICA SELJA

Asistente Dra. MARCELA LEGNANI CARDOSO

Post grado Dra. CRISTINA ARENAS

TOMA DE MUESTRAS BACTERIOLÓGICAS INSTRUCTIVO

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas se basa en el estudio de los síntomas y signos clínicos, así como en la demostración de la presencia del agente, de productos o de la huella que éste ha dejado en su contacto con el sistema inmune del individuo. El diagnóstico clínico es, en muchos casos, orientador luego de evaluar los datos que ofrecen la historia clínica y la exploración pero, la confirmación de un diagnóstico clínico requiere en enfermedades infecciosas el diagnóstico etiológico que confiere el Laboratorio de Microbiología Clínica.

Toda la información diagnóstica que el laboratorio de microbiología puede proporcionar, depende de la calidad de la muestra recibida. Por ello, una toma mal realizada, pobremente recogida o mal transportada determinará un posible fallo en la recuperación de los agentes patógenos, que puede inducir a errores diagnósticos, e incluso a un tratamiento inadecuado del enfermo. Este hecho es bien conocido por los microbiólogos, no obstante la mayoría de las muestras son obtenidas por otros profesionales de la salud en diversos servicios clínicos, por lo que es necesaria la educación continua de dicho personal sanitario, al que hay que advertir del gasto inútil y el error de los datos obtenidos a partir de un estudio realizado de forma inadecuada.

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

Normas básicas generales:

- Las muestras deben venir acompañadas de su respectiva hoja de pedido donde deben llenarse todos los datos solicitados por el laboratorio. **En todos los casos es imprescindible: 1) nombre completo, 2) N° de Cédula de Identidad o N° de registro, 3) edad, 4) sexo, 5) servicio, policlínica o internación (piso, sala, cama) 5) tipo de muestra : urocultivo, exudado de herida quirúrgica de tórax, pus de colección intrabdominal, etc. 6) consignar si el paciente recibió antibióticos en los últimos 7 días, si es así anotar nombre del ATB , dosis y vías de administración.**
- Los viales, tubos o frascos donde se colocan las muestras deben ser estériles con tapón hermético. Las muestras se deben obtener antes de iniciar el tratamiento antibiótico o antiviral. Cuando esto no es posible, se obtendrán justo antes de la administración de la dosis del antimicrobiano, o tras 48 horas de finalizado el tratamiento.
- Hay situaciones en que es conveniente la toma junto a la cama del enfermo, como en hemocultivos y líquido cefalorraquídeo (LCR), pero en otras es imprescindible realizarla en el propio laboratorio como en exudados genitales que requieren una observación en fresco al microscopio y/o siembra inmediata.
- En líneas generales en todas las localizaciones es necesario que la toma se efectúe en el sitio exacto de la lesión con las máximas condiciones de asepsia que eviten la contaminación con microbios exógenos, que la muestra nunca se ponga en contacto con antisépticos o

desinfectantes, que la toma sea lo más precoz posible y **”siempre se prefieran los productos purulentos recogidos por aspiración directa con jeringa o tejidos sospechosos, a las muestras tomadas con hisopos o torundas con algodón.”**

- Todas las situaciones no previstas en este manual deben ser consultadas con los especialistas en Microbiología antes de tomar las muestras.
- En caso de no disponer de alguno de los sistemas de transporte recomendados consultar con la Sección Microbiología que será la que deberá instrumentar las soluciones alternativas.
- **Criterios de Rechazo de Solicitudes y/o Muestras:** Si las solicitudes y/o las muestras no cumplen los requisitos mínimos indispensables para su correcto procesamiento el laboratorio deberá aclarar las discrepancias con el servicio que las envió, previo a su realización y en algunos casos será imposible su procesamiento hasta tanto se envíe la muestra correcta. Los siguientes son algunos ejemplos de ello:
 - ▶ Discrepancia entre la identificación del paciente que figura en la solicitud del exámen y la que figura en el contenedor de la muestra. **Acción:** Hablar con el servicio que envió la muestra y no procesarla hasta que se solucione la discrepancia. Para muestras únicas (LCR , materiales quirúrgicos) se procesará pero no se enviará el informe.
 - ▶ No se indica en la solicitud de exámen el tipo de muestra a analizar y/o procedencia anatómica del mismo. **Acción:** Llamar al servicio que lo envió. No se procesará hasta tanto se conozcan esos datos, imprescindibles para la realización del estudio.
 - ▶ Muestra enviada en frasco no estéril o con conservantes (formol). **Acción:** Informar al servicio que lo envió y solicitar nueva muestra.
 - ▶ Muestra enviada en envase o tubo con pérdida o derrame **Acción:** No procesar. Esterilizar la muestra y solicitar una nueva.
 - ▶ Muestra inadecuada para realizar el estudio solicitado. **Acción:** No procesar. Informar al servicio que la muestra es inadecuada y cual muestra deberá enviar.
 - ▶ Cultivo anaerobio solicitado en exudado faríngeo, expectoración, orina, secreciones vaginales, úlceras o fístulas entre otras. **Acción:** Comunicarse con el servicio y explicar las razones.
 - ▶ Muestra en cantidad insuficiente para realizar los exámenes solicitados: **Acción:** Solicitar muestra adicional, si no es posible establecer prioridades de procesamiento en acuerdo con el médico tratante.
 - ▶ Muestras repetidas por más de una vez en el mismo día, excepto hemocultivos. **Acción:** procesar una sola muestra por día y comunicarse al servicio para que justifique el procesamiento de las muestras restantes.
 - ▶ Muestra evidentemente contaminada. **Acción:** Descartar la muestra y solicitar otra.

1 MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO

1.1 MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

1.1.1 EXUDADO FARINGEO

Se utiliza para el diagnóstico de faringitis estreptocócica. Excepcionalmente se pueden requerir búsqueda de otros patógenos (por ejemplo: *Neisseria gonorrhoeae*) consultar con el laboratorio.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Bajalenguas (imprescindible)
- Hisopo de algodón con medio de transporte. (Stuart, Amies)

B. TÉCNICA.

Bajo visión directa, con la ayuda del bajalengua, se tocará con el hisopo en todas las partes con exudado, membranas o inflamación. Se deben frotar las criptas tonsilares y la faringe posterior. En lo posible no tocar la mucosa oral, lengua, úvula ni dientes.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Basta con un hisopo.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

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

Si no es posible, conservar en heladera a 4°C hasta 12 horas.

D. OBSERVACIONES.

Se investigará rutinariamente la presencia de *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo A (*S. pyogenes*) y otros grupos beta hemolíticos como C y G.

1.1.2 CAVIDAD OROFARINGEA.

Esta muestra se emplea habitualmente para el diagnóstico de la llamada "Angina de Vincent". Este tipo de muestra conviene realizarla en el Laboratorio de Microbiología, coordinando con un Microbiólogo.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Hisopo de algodón sin medio de transporte.
- Porta objetos limpios.

B. TÉCNICA.

- Se pedirá al paciente que se enjuague la boca con agua.
- Tras enjuagar la boca, frotar o raspar las lesiones con una espátula o con un hisopo y hacer una extensión sobre un porta objetos.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

1 extensión en porta objeto + 1 hisopo.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

No requiere medidas especiales para su transporte y conservación.

1.1.3 SENOS PARANASALES.

Es un procedimiento médico. Se realiza la punción-aspiración de los mismos, lo que requiere un especialista en O.R.L.. Este tipo de muestra no se realiza de rutina en caso de sinusitis aguda, sino

que en general se reserva para casos de sinusitis crónica, para aquellos casos que no responden al tratamiento instaurado y en aquellos casos que el especialista considere necesario.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Yodo povidona al 10%
- Recipiente estéril.
- Medio de transporte para anaerobios.
- Material quirúrgico de O.R.L.

B. TÉCNICA.

- Desinfectar el lugar de la punción con Yodo povidona
- Introducir una aguja en el antrum maxilar por debajo del cornete inferior, o en el seno frontal por debajo del marco supraorbital del ojo.
- Aspirar el líquido del seno. Cuando no se obtenga líquido, instilar 1 ml de suero salino estéril y aspirarlo nuevamente.
- Inyectar la muestra en un medio de transporte para anaerobios o en su defecto tubo estéril.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se intentará obtener al menos 1 ml de muestra.

D. TRANPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

1.1.4 EXUDADO NASAL

Esta muestra solo se utiliza para buscar portadores de *S.aureus* o en el diagnóstico etiológico de impétigo. No es útil para el diagnóstico etiológico en casos de rinitis, rinosinusitis ni en casos de otitis media ni cuadros respiratorios altos prolongados Recordamos que alrededor del 30% de la población es portadora de este microorganismo a nivel nasofaríngeo por lo cual su hallazgo no tiene habitualmente significancia clínica salvo en situaciones especiales. En el personal de salud sólo se realizará la búsqueda de portadores en el caso de brotes de infecciones en los que no se ha encontrado otra fuente de infección. Este tipo de investigación se realizará en coordinación con el Comité de Infecciones Hospitalarias, quien determinará la oportunidad de su realización.

A.MATERIAL NECESARIO.

- Hisopo de algodón con medio de transporte.

B. TÉCNICA.

Tomar muestra profunda de ambas fosas nasales con el mismo hisopo, previamente embebido en suero fisiológico estéril.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Basta con un hisopo.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

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

D. OBSERVACIONES.

*Se deberá consignar en el boleto de pedido si hay lesiones o costras a nivel nasal. **(muy importante)***

1.1.5 MUESTRAS DE OÍDO

1.1.5.1 CONDUCTO AUDITIVO EXTERNO

Solo se utiliza para conocer la etiología en caso de otitis externa. Suele tratarse de muestras de mala calidad y *en ningún caso resultan representativas de los microorganismos existentes en el oído medio.*

A MATERIAL NECESARIO.

- Hisopos de algodón con medio de transporte
- Suero fisiológico estéril

B. TÉCNICA.

Primero limpiar posibles restos de pus o secreciones del conducto auditivo externo con hisopo humedecido en suero fisiológico y descartar. Luego tomar muestra del oído indicado o de ambos por separado frotando con nuevo hisopo contra las paredes.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Un hisopo para cada oído.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

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

1.1.5.2 OIDO MEDIO- TIMPANOCENTÉSIS

Se reserva para el diagnóstico etiológico en casos de otitis media que no ha respondido al tratamiento, que se presenta en pacientes inmunodeprimidos, en otitis crónica y en aquellos casos que el médico considere necesario.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Hisopos estériles.
- Recipiente estéril.
- Medio de transporte para anaerobios.
- Yodo povidona al 10%.

B. TÉCNICA.

Timpanocentésis: Debe obtener la muestra un especialista en O.R.L.

Se limpiará el canal auditivo externo con un hisopo impregnado en Yodo povidona.

Se puncionará el tímpano a través de un otoscopio estéril. La muestra se enviará en un tubo estéril.

Si se desea la investigación de anaerobios, se enviará el fluido en un medio de transporte específico.

Las muestras en hisopo no sirven para cultivo de anaerobios.

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

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Se intentará obtener la mayor cantidad de exudado posible.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

1.1.6 MUESTRAS OCULARES.

Por vecindad estas muestras se estudian con las del tracto respiratorio superior.

1.1.6.1 EXUDADO CONJUNTIVAL

Este tipo de muestras sirve para el diagnóstico de conjuntivitis de causa bacteriana. Estas son a menudo unilaterales. De todas maneras se solicita que se haga la toma de muestra de ambos sacos conjuntivales por separado, de manera de poder valorar la flora normal. Siempre que sea posible se realizará la toma de muestra en el Laboratorio de Microbiología.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Hisopos con medio de transporte.

- Suero fisiológico estéril.

B. TECNICA.

- Debe obtenerse la muestra antes de la instilación de los analgésicos locales, colirios o antibióticos.
- Con un hisopo mojado en suero fisiológico frotar sobre la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix de afuera hacia adentro.
- Para la investigación de *Chlamydia trachomatis*, evertir el párpado y frotar con una torunda la superficie conjuntival con hisopo provisto por el laboratorio para investigación de Chlamydias.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Deberá utilizarse un hisopo para cada ojo.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

El transporte deberá ser inmediato. Cuando no sea posible, se utilizarán hisopos con medio de transporte tipo Stuart o Amies, que se mantendrán a temperatura ambiente. Para *Chlamydia* se utilizará un medio de transporte específico que depende de cada laboratorio.

E. OBSERVACIONES.

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

1.1.6.2 RASPADOS CORNEALES.

Es un procedimiento médico. La toma de muestra la realizará un Oftalmólogo en el Laboratorio de Microbiología en coordinación con un Microbiólogo. Si esto no es posible se avisará previamente al Servicio de Microbiología que desplazará al personal y/o material necesario para ello.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Espátula de platino flexible o ansa bacteriológica nueva o descartable.
- Anestésico local.
- Portaobjetos limpios con círculos marcados.
- Caja de Koplín con metanol al 95%.

B. TECNICA.

- Instilar uno o dos gotas de anestésico.
- Realizar el raspado de múltiples áreas de ulceración con la espátula de Kimura .
- El material obtenido se siembra en los medios provistos por el laboratorio.
- Parte del material se colocará en el círculo de un portaobjetos limpio.
- Fijar el portaobjetos en Metanol durante 5-10 minutos.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Mínimo 1 portaobjetos y medios de cultivos con varias improntas corneales.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

Una vez fijados los portaobjetos no requieren medidas especiales para su transporte y conservación. Los medios se transportarán en forma inmediata al Laboratorio de Microbiología.

1.2 MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

1.2.1 EXPECTORACIÓN

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

medida de su correcta obtención, control de calidad antes de iniciar su procesamiento, tipo de agente que se pretenda detectar y valoración adecuada del resultado.

A.MATERIAL NECESARIO.

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

B.TÉCNICA O METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

- Enjuagar la boca con agua destilada estéril o solución salina.
- Obtener el esputo tras una expectoración profunda luego de un esfuerzo de tos, preferentemente matinal.
- La muestra debe provenir del sector bajo del tracto respiratorio.

La saliva no sirve para realizar este estudio.

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

C.VOLUMEN MÍNIMO.

De 2 a 10 ml, si es posible.

D.TRANSPORTE Y CONSERVACION.

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

E.OBSERVACIONES.

- Es preferible realizar la toma antes de instaurar el tratamiento antibiótico.
- No es útil para anaerobios.
- No son inoculables las secreciones de sospechosa procedencia.
- La expectoración debe rechazarse hasta obtener un esputo de calidad suficiente (mas de 25 leucocitos polimorfonucleares y menos de 10 células epiteliales por campo 100x).
- Si no se obtiene muestra representativa del tracto respiratorio inferior, es inútil insistir con esta técnica diagnóstica.
- Si el pedido incluye baciloscopía se deben recoger 3 muestras en 3 días sucesivos. Mientras conservar en la heladera a 4°C hasta el tercer día y llevar las 3 muestras juntas al laboratorio.

1.2.2 ASPIRADO TRAQUEAL O SECRECIONES TRAQUEALES

Esta muestra se utiliza fundamentalmente para valorar la colonización del tracto respiratorio en el paciente ventilado. Tiene valor análogo al esputo por su contaminación con la flora orofaríngea. No obstante un resultado de cultivo semicuantitativo de 3 o 4 cruces (desarrollo en 3 o 4 cuadrantes de la placa de Petri) se correlaciona bien con la etiología de la neumonía en el paciente ventilado.

Esta muestra se obtiene con sonda de aspiración por personal de enfermería debidamente entrenado. Se enviará al laboratorio en tubo estéril o en tubuladura de suero.

Tiene las mismas consideraciones que la expectoración.

1.2.3 PUNCION TRANSTRAQUEAL.

Es un procedimiento médico.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Guantes, campos, gasa estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Yodo povidona al 10%
- Suero fisiológico.
- Jeringas estériles.

- Aguja y catéter nº 14-16 (de subclavia).
- Anestésico local / lidocaína al 1-2% con adrenalina.

B. TÉCNICA O METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

- Técnica a realizar por personal entrenado.
- Desinfección de la piel con Yodo povidona.
- Introducción del catéter por punción a través de la membrana cricotiroides, inyectar suero fisiológico y aspirar.

C. VOLUMEN DE LA MUESTRA.

La máxima cantidad de aspirado posible.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Colocar la muestra en un medio de transporte para anaerobios.

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

E. OBSERVACIONES.

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

1.2.4 MUESTRAS OBTENIDAS A TRAVÉS DE FIBROBRONCOSCOPIO.

Son todos procedimientos médicos.

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

A. MATERIAL NECESARIO.

- Material específico para broncoscopia.
- Recipiente estéril hermético.
- Tubo estéril con 1 ml de suero fisiológico.
- Material de corte estéril.

B. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

Enviar inmediatamente al laboratorio.

D. TÉCNICA O METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

Técnica a realizar por personal entrenado.

Pueden emplearse las siguientes:

1.2.4.1 BRONCOASPIRADO (BAS).

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

1.2.4.2 CEPILLADO BRONQUIAL CON CATÉTER PROTEGIDO

Cepillado de la mucosa bronquial del lóbulo afectado a través de un fibrobroncoscopio mediante un cepillo protegido por un doble catéter ocluido distalmente para evitar la contaminación de vías altas.

1.2.4.3 LAVADO BRONCOALVEOLAR

Lavado de un segmento pulmonar (lóbulo medio o lóbulo lingular) previo anclaje del broncoscopio, introduciendo de 20 a 50 ml de suero fisiológico. Los primeros 10 ml que se aspiran se deben descartar.

Indicado especialmente en procesos pulmonares intersticiales. (Neumonía en pacientes en asistencia respiratoria mecánica)

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

1.2.4.4 LAVADO BRONCOALVEOLAR A CIEGAS

Utiliza los mismos principios que los lavados a través de fibrobroncoscopio pero se realiza sin este. Esta maniobra debe ser realizada por personal médico debidamente entrenado.

1.2.4.5 BIOPSIA TRANSBRONQUIAL.

Obtención de tejido pulmonar mediante técnica broncoscópica.

Posible contaminación de la pinza de biopsia.

Complicaciones: neumotórax, hemorragia.

1.2.5 MUESTRAS OBTENIDAS POR ABORDAJE PERCUTÁNEO.

Son todos procedimientos médicos.

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

A. MATERIAL NECESARIO.

- Material quirúrgico específico para punción.
- Recipiente estéril y hermético.
- Formol al 10%.
- Suero fisiológico.

B.VOLUMEN MÍNIMO.

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

B. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

Si es una pieza de biopsia se divide en dos fragmentos: uno se coloca en suero fisiológico para estudio microbiológico y otro en formol al 10% para estudio anatomopatológico.

Debe enviarse inmediatamente al laboratorio.

D. TÉCNICA O METODOLOGIA DE OBTENCION DEL PRODUCTO.

Técnica a realizar por personal entrenado.

Pueden emplearse las siguientes:

1.2.5.1 PUNCION PULMONAR ASPIRATIVA TRANSTORÁCICA.

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

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

Contraindicado en pacientes con bullas, trastornos de coagulación y sospecha de hidatidosis.

Posibles complicaciones, como neumotórax y hemoptisis.

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

1.2.5.2 PUNCION BIÓPSICA PULMONAR.

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

1.2.5.3 BIOPSIA PULMONAR CON TORACOSCOPIO.

1.2.5.4 BIOPSIA PULMONAR POR TORACOTOMÍA.

Permite la selección visual del área neumónica a cielo abierto.

2 SANGRE

2.1 HEMOCULTIVOS

A. MATERIAL NECESARIO.

- frascos de hemocultivo proporcionados por el Laboratorio de Microbiología.
- ligadura de goma.
- jeringas y agujas de punción i/v.
- gasas estériles.
- guantes estériles.
- alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Yodo povidona al 10%.

B. OBTENCION DE LA MUESTRA.

El procedimiento de extracción de sangre para la realización de hemocultivos se debe realizar cumpliendo las máximas precauciones de asepsia.

1. Lavarse las manos.
2. Colocar ligadura y campo estéril.
3. Palpar la vena a puncionar.
4. Realizar antisepsia con alcohol 70% en una zona de piel de unos 10 cm de diámetro alrededor del sitio de punción. Se comenzará por el centro y se irán haciendo círculos concéntricos hacia el exterior.
5. Repetir el procedimiento utilizando Yodo povidona al 10%.
6. Dejar actuar 1-2 minutos, esto es : hasta que se seque el antiséptico sobre la piel.
7. Mientras actúa el yodóforo, desinfectar el tapón de goma del frasco de hemocultivo con alcohol 70%.
8. Colocarse los guantes estériles.
9. Extraer la sangre sin tocar en ningún momento el campo desinfectado. Si fuera necesario palpar nuevamente la vena se cambiarán los guantes estériles y se realizará nueva antisepsia de piel.
10. Inyectar directamente la sangre en el frasco. No es necesario cambiar de aguja.
11. Mover los frascos para que la sangre y el medio de cultivo se mezclen.
12. Para frascos de sistemas automatizados, retirar las tirillas de las botellas y pegarlas en la hoja de pedido correspondiente al paciente. En ningún caso se rotulará o pegará ningún tipo de etiqueta adhesiva sobre los códigos de barras de las botellas.

C. VOLUMEN DE LA MUESTRA.

La cantidad de sangre a introducir en cada botella es de 10 ml en el caso de pacientes adultos.

En caso de neonatos y niños pequeños en que no se pueden obtener volúmenes grandes de sangre, es suficiente una cantidad 1-5 ml por frasco. En estos casos se utilizan botellas de hemocultivo pediátrico.

D. NÚMERO DE MUESTRAS.

Dos hemocultivos por paciente, previos al tratamiento antimicrobiano. El intervalo de tiempo entre las extracciones es suficiente con una hora, pero cuando exista una gran urgencia en iniciar el

tratamiento, este intervalo puede acortarse hasta 15 minutos o se pueden extraer dos muestras simultáneas de diferentes sitios de punción. En caso de **endocarditis subaguda** se recomienda aumentar a tres frascos de hemocultivo repartidos en 24 horas y en caso de que la primera serie sea negativa, obtener tres muestras más al día siguiente. Si el paciente está recibiendo antibióticos puede ser necesario obtener otra serie de hemocultivos al tercer día.

E. TRANSPORTE.

Deben enviarse en forma inmediata al laboratorio una vez finalizada la serie. Mientras, mantener a temperatura ambiente. Nunca debe refrigerarse ni congelarse.

F. OBSERVACIONES.

- Cuando no haya venas accesibles puede realizarse la extracción de sangre arterial. No son adecuadas las muestras extraídas a través de catéteres.
- En caso de sospecha de determinados microorganismos (*Brucella* spp, Leptospiras, Micobacterias, Hongos, etc) ponerse en contacto con el Laboratorio de Microbiología.
- En caso que el paciente esté recibiendo antibióticos realizar la toma previo a la administración de la dosis de antimicrobiano.
- Si se evita conversar durante la toma de la muestra no es necesario colocarse tapabocas.
- En sala de inmunodeprimidos sí es aconsejable el uso de gorro y tapabocas.

2.2 CATÉTERES INTRAVASCULARES

El estudio de catéteres que se realiza en forma rutinaria a nivel del Laboratorio de Microbiología es la técnica semicuantitativa de Maki. Esta técnica permite valorar la contaminación extraluminal del catéter, principal mecanismo por el cual se contaminan los catéteres de corta permanencia y pueden llegar a ser el origen de una bacteriemia.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Guantes estériles.
- Gasas estériles.
- Pinzas y tijeras estériles.
- Recipiente estéril con tapa de rosca.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Yodo povidona al 10%

B. OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

- Desinfectar con alcohol al 70% una zona de piel de unos 10 cm correspondiente a la zona de entrada del catéter. Hacerlo en forma de círculos comenzando por el centro.
- Repetir la misma operación, pero con iodóforo, dejando que se seque.
- Retirar el catéter con la máxima asepsia.
- Ayudándonos de las pinzas y las tijeras estériles, cortar los 5 cm distales del catéter que corresponden a la porción intravascular.
- Introducir el segmento de catéter en un recipiente estéril correctamente identificado.

C. TAMAÑO DE LA MUESTRA.

5 cm de la porción más distal. Porciones mayores dificultan el procesamiento en el laboratorio.

D. TRANSPORTE.

La muestra deberá enviarse al laboratorio en un periodo inferior a 30 minutos. Cuando esto no sea posible deberá conservarse a 4°C por 12 horas como máximo.

3 MUESTRAS DEL TRACTO URINARIO

3.1 UROCULTIVO Orina obtenida por “Chorro medio”

A. MATERIAL NECESARIO.

- gasas estériles.
- jabón neutro.
- recipiente de boca ancha con tapa de rosca hermético y estéril.

B. OBTENCIÓN DEL PRODUCTO.

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

3.1.1 TÉCNICA PARA MUJERES.

- Lavarse las manos cuidadosamente con agua y jabón, enjuagar con agua y secar con una toalla limpia.
- Se separarán los labios mayores y menores, y los mantendrá separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.
- con una gasa enjabonada se lava bien la vulva pasándola de delante hacia atrás, se repetirá el proceso un total de 4 veces.
- enjuagar cuidadosamente con agua para eliminar los restos de jabón.
- se indicará a la paciente que orine desechando el primer chorro (20-25 primeros mililitros) tras lo cual y sin interrumpir la micción, se recogerá el resto de la orina en el recipiente , el cual se cerrará inmediatamente.
- el frasco debe sujetarse para que no tome contacto con pierna, vulva o ropa del paciente. Los dedos no deben tocar el borde del frasco o su superficie interior.

3.1.2 TÉCNICA PARA HOMBRES.

- lavado de las manos con agua y jabón.
- retraer completamente el prepucio, que se mantendrá así en todo momento, hasta que se haya recogido la orina.
- limpiar el glande con jabón neutro.
- eliminar los restos de jabón enjuagándolo con agua.
- se pedirá al paciente que orine desechando el primer chorro, los primeros 20-25 mililitros y sin interrumpir la micción, recoger el resto de la orina en el recipiente estéril.

3.2 OBTENCIÓN DE ORINA PARA UROCULTIVO EN EL PACIENTE CON SONDA VESICAL

A. MATERIAL NECESARIO.

- gasas.
- alcohol 70° o Yodo povidona 10%.
- jeringa o aguja estéril.

- recipiente estéril.

B. OBTENCIÓN DE LA ORINA.

1. Si es posible realizar la toma inmediatamente luego del recambio de la sonda.
2. Pinzar la sonda a 10 cm del meato durante 1 a 2 dos horas como máximo.
3. Sin despinzar, desinfectar la sonda con Yodo povidona al 10 %, a 3-4 cm por encima de la pinza.
4. Extraer orina puncionando la sonda con jeringa y aguja.
5. Colocar la orina en frasco estéril.

3.3 PUNCIÓN SUPRAPÚBICA

Es un procedimiento médico.

Indicaciones. Evidencia clínica de infección urinaria con recuentos bajos o nulos, neonatos y lactantes y urocultivos repetidos con dos o más bacterias.

La punción suprapúbica requiere un buen conocimiento de la técnica y de las precauciones que hay que adoptar, con rigurosa asepsia, descartando problemas de hemostasia y con la vejiga palpable y previa desinfección y anestesia local; se punciona ésta a 1,5 cm de la sínfisis pubiana, en la línea media, estando el paciente en decúbito supino, con una jeringa de 10 ml y con aguja larga (calibre 19) se aspira el contenido vesical. En caso de orina obtenida por punción suprapúbica se enviará al laboratorio lo antes posible. Colocar la muestra en frasco estéril. Se debe indicar en la hoja de pedido la técnica empleada para su extracción (dato importante a la hora de valorar el recuento de colonias).

C. VOLUMEN MÍNIMO DE LA MUESTRA.

Es suficiente un volumen de orina de 5-10 ml.

D. TRANSPORTE.

La orina debe llegar al laboratorio en el plazo de una hora. Cuando esto no sea posible debe refrigerarse a 4°C durante un tiempo máximo de 12 horas.

E. OBSERVACIONES.

Para la **búsqueda de micobacterias**, la orina se recoge por técnica de chorro medio, durante 5 días consecutivos. En este caso el volumen de orina no debe ser inferior a 300 ml por muestra. Se elegirá preferentemente la primera micción de la mañana.

4 LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

4.1 LIQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

4.1.1 LCR POR PUNCIÓN LUMBAR

Es un procedimiento médico

A. MATERIAL NECESARIO.

- Campos estériles.
- Guantes estériles.
- Gasas estériles.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Yodo povidona al 10%.
- Jeringas de 5-10 ml.

-Agujas de punción IM.

-Trócares de punción lumbar de varios tamaños.

-Tubos cónicos limpios y estériles con tapón de rosca. Es necesario que estén totalmente limpios, no alcanza con que estén sólo estériles pues la presencia de bacterias muertas por la esterilización puede inducir a errores por tinciones falsamente positivas. No se deben usar tampoco frascos que hayan contenido medicamentos como por ejemplo antibióticos aunque estén estériles, porque restos de medicación pueden tener efecto antimicrobiano y negativizar los cultivos.

B. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

- Se obtendrá antes de instaurar cualquier terapéutica antibiótica.

- Quien realice la toma de la muestra deberá lavarse las manos previo al procedimiento, colocarse sobretúnica y guantes estériles.

- Se localiza la zona elegida para la punción lumbar mediante palpación de los espacios intervertebrales una vez colocado el paciente en la posición adecuada.

- Se desinfecta con alcohol al 70% una zona de uso 10 cm de diámetro en el área elegida, la aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia.

- Se coloca campo estéril

- Se repite la operación con Yodo povidona que se deja secar durante un minuto.

- Realizar la punción entre los espacios intervertebrales L3-L4, L4-L5 o L5-S1, siguiendo las normas de la más estricta asepsia.

- Al llegar al espacio subaracnoideo retirar el estilete y dejar salir libremente el líquido cefalorraquídeo que se recogerá en tres tubos, sin conservantes, con tapón de rosca.

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

C. VOLUMEN MÍNIMO.

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

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

- Para estudio de virus se necesita por lo menos 1 ml más.

D. TRANSPORTE.

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

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

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

E. OBSERVACIONES.

- Como la meningitis suele surgir por un proceso bacteriémico se solicitarán simultáneamente hemocultivos, pudiendo ser así mismo estudiadas las posibles lesiones metastásicas cutáneas.
- Es necesario que el médico señale claramente las investigaciones solicitadas (bacterias habituales, micobacterias, anaerobios, hongos o virus).

4.1.2 -LCR EN PACIENTES CON SHUNTS VENTRICULARES:

4.1.2.1 LCR obtenido de reservorio subcutáneo , Ommaya .

Esta toma debe ser consultada previamente con el especialista, neurocirujano a ver si es factible su realización.

Hacer la toma del lugar de recolección del reservorio previa desinfección y antisepsia.

4.1.2.2 LCR obtenido del circuito del derivación.

Si no es posible obtener LCR por punción del reservorio se obtendrá abriendo el circuito haciendo una buena desinfección del sitio.

4.2 OTROS LÍQUIDOS BIOLÓGICOS : PERITONEAL (ASCITIS), PERICÁRDICO, PLEURAL, ARTICULAR

En este apartado trataremos de líquidos orgánicos, habitualmente estériles, salvo LCR. La toma de muestra, para la obtención de estos líquidos, es un procedimiento médico que requiere de ciertos cuidados para obtener una muestra adecuada para el examen microbiológico.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Campos estériles.
- Gasas estériles.
- Guantes estériles.
- Jeringas y agujas estériles. No se deben utilizar jeringas heparinizadas, pues la heparina lleva conservantes que pueden interferir la viabilidad de los microorganismos.
- Yodo povidona al 10%.
- Recipientes estériles con tapón de rosca.
- Recipientes estériles de boca ancha (ejemplo: .el frasco de urocultivo).
- Sistemas de transporte de líquidos para estudio de anaerobios.
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%.
- Frascos de hemocultivos.

B. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

Varía dependiendo del líquido corporal que se trate, pero siempre deberá seguirse una técnica rigurosamente aséptica. La muestra se obtiene por punción y se coloca en recipientes adecuados para su envío al laboratorio. Siempre que sea posible evitar el uso de hisopos.-

-Realizar antisepsia de piel con alcohol, haciendo círculos concéntricos desde el centro hacia la periferia en una zona de unos 10 cm de diámetro.

- Repetir el paso anterior con Yodo povidona al 10%, dejando secar durante un minuto. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, realizar la desinfección con alcohol 70%, dos veces consecutivas.

- La toma se hace por punción percutánea (toracocentesis, paracentesis, punción pericárdica o punción articular) de forma aséptica para evitar la contaminación por la flora cutánea o ambiental.

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

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

C. VOLUMEN MÍNIMO.

Para el estudio bacteriano rutinario es suficiente de 1 a 10 ml. Cuando se requiera la investigación de *Mycobacterium spp.* u hongos se enviará un volumen superior a 10 ml.

D. TRANSPORTE.

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

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

Los viales o tubos prerreducidos para el transporte de muestras para el estudio de anaerobios se emplearán en aquellos casos en que se sospeche este tipo de microorganismos.

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

En ningún caso se aceptaran hisopos embebidos en el líquido.

Las muestras deben ser enviadas inmediatamente al laboratorio.

E. OBSERVACIONES.

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

4.3 LÍQUIDO DE DIALISIS PERITONEAL CRÓNICA AMBULATORIA

- La muestra del líquido de diálisis peritoneal crónica ambulatoria debe ser la propia bolsa que lo contiene.
- La bolsa se enviara de inmediato al Laboratorio para su procesamiento o se conservará en la heladera hasta 12 horas.

5 PIEL Y TEJIDOS BLANDOS.

- El espécimen de elección en el caso de infecciones de piel y partes blandas depende del carácter de la lesión y no de los microorganismos que se sospechen.
- Para las lesiones abiertas, se debe remover la flora y detritus superficiales antes de recolectar la muestra de los márgenes de avance de la lesión.
- En caso de lesiones secas o costrosas los cultivos no están recomendados salvo que presenten exudado.
- En el caso de abscesos cerrados la recolección se realizará con aguja y jeringa de la pared del mismo, previa antisepsia de piel.
- En el caso de abscesos abiertos se debe decontaminar primero como en el caso de heridas abiertas.
- Las quemaduras se cultivan luego de una extensa limpieza y debridamiento. Se recomiendan cultivos de biopsia ya que los cultivos superficiales pueden ser poco representativos de lo que sucede en la profundidad del tejido.

5.1 HERIDAS SUPERFICIALES Y ABSCESOS ABIERTOS.

A. MATERIAL NECESARIO.

- Suero fisiológico.
- Jeringa y aguja estériles.
- Recipientes estériles con tapa de rosca.
- Hisopos con medio de transporte tipo Stuart-Amies.

B. TECNICA.

- Lavar con suero fisiológico estéril cuidadosamente la superficie de la herida para retirar la flora colonizante.
- Recoger el pus mediante jeringa y aguja, aspirando preferentemente de zonas profundas.
- Cuando la muestra sea insuficiente, instilar suero o solución de Ringer lactato y aspirarlo nuevamente en la jeringa.
- Cuando los procedimientos anteriores no sean factibles podrá efectuarse un frotis de los bordes de la herida con un hisopo.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

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

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

El envío al laboratorio debe ser inmediato. Se utilizará para el envío tubos estériles con tapa rosca. La jeringa de la extracción será evacuada en el recipiente en que se hará el envío. La práctica de colocar un tapón de goma en la aguja (usando la jeringa como recipiente de transporte) debe deshecharse por el riesgo para el personal de sufrir un pinchazo con una aguja contaminada con líquidos orgánicos. No olvidar identificar la muestra adecuadamente y si no puede procesarse antes de 2 horas usar medio de transporte.

E. OBSERVACIONES.

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

Es importante especificar sitio anatómico de donde se realizó la toma de muestra.

5.2 ABSCESOS CERRADOS.

Es un procedimiento médico

A. MATERIAL NECESARIO.

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

B. TECNICA.

- Realizar antisepsia de la zona a puncionar con alcohol al 70%, de forma concéntrica comenzando por el centro. Abarcar una zona de unos 10 cm.

- Repetir la operación con Yodo povidona. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, se utilizará alcohol 70 % dos veces consecutivas.
- Dejar secar al menos 1 minuto para que el antiséptico ejerza su acción.
- Realizar una punción-aspiración del absceso con jeringa y aguja, la muestra más útil es la obtenida contra la pared del absceso y puncionando en el lado superior para evitar la fistulización espontánea.
- Traspasar la muestra a un contenedor estéril. Si se requiere búsqueda de anaerobios introducir en un medio de transporte para anaerobios.

C. NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

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

D. TRANSPORTE Y CONSERVACION.

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

E.OBSERVACIONES.

Es muy importante especificar en la solicitud la localización del absceso con vistas a la interpretación de los resultados. Si se carece de recipiente para transporte de muestra para anaerobios consultar al laboratorio.

5.3 HERIDA QUIRÚRGICA

La toma de muestra se realizará con técnica aséptica luego de limpieza de la zona con suero fisiológico para eliminar la contaminación superficial. Se realizará por punción y se colocará la muestra en recipiente estéril con tapa de rosca, si se sospecha presencia de anaerobios comunicarse con el laboratorio para solicitar medio de transporte. Si la muestra es obtenida con hisopo realizar primero la limpieza de la zona y luego embeber en el pus el mismo.

5.4 QUEMADURAS

El tipo de toma de muestra es controvertido, pero los mejores resultados se han logrado con punch de tejido de 3 o 4 mm para realizar cultivos cuantitativos. Se transportan en tubos con tapa rosca estériles.

Pueden hacerse tomas de exudado con hisopo haciendo las siguientes salvedades: solo se cultivaran para búsqueda de aerobios, no se hará cuantificación y además el resultado obtenido puede no ser representativo de la infección.

6 MUESTRAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

6.1 MATERIAS FECALES

Esta muestra se utiliza para el diagnóstico etiológico de gastroenterocolitis aguda. Excepcionalmente se puede utilizar para la búsqueda de portadores de *Salmonella sp.* En los

laboratorios de Microbiología de índole asistencial de adultos se realiza búsqueda de *Salmonella* y *Shigella*. Si se sospechan otros agentes consultar con el Laboratorio de Microbiología.

A.- MATERIAL NECESARIO

- Recipiente de boca ancha para recoger las heces, no es necesario que esté estéril, solo es preciso que esté limpio. No contendrá restos de jabones, detergentes, desinfectantes o iones metálicos.
- Recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético para enviar la muestra. (ejemplo: frasco de urocultivos). La muestra de heces para colocar en el frasco se recoge con espátula o bajalenguas.
- Medios de transporte para heces. Se emplean solo si el envío de la muestra se demora y se solicita en laboratorio de Microbiología. Existen sistemas comerciales para bacterias. (Cary-Blair o solución de glicerol tamponado)

B.- OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- Solo se procesan materias líquidas o a lo sumo pastosas.
- Si son pastosas se toma una porción del recipiente donde hayan sido emitidas y se transfieren al sistema elegido para el envío al laboratorio. Se seleccionan las partes con mucus, pus o sangre.
- En caso de heces líquidas puede utilizarse jeringa para aspirado del material fecal del recipiente en donde ha sido emitido.
- No se procesarán las muestras de materias sólidas ni contaminadas con orina.

C.- VOLUMEN MINIMO

Heces pastosas: muestras del tamaño de una nuez son muy adecuadas pues permiten realizar la mayoría de los estudios.

Heces líquidas entre 5 y 10 ml.

D.- TRANSPORTE

- Si la muestra no se envía en forma inmediata se debe refrigerar.
- Si se va a procesar en el plazo de 1 o 2 horas después de su emisión, no necesitan medio de transporte.
- En caso contrario se remiten las materias en un sistema de transporte para enteropatógenos. Mientras tanto mantener refrigerada las muestras, para evitar el sobrecrecimiento de la flora normal que puede enmascarar o destruir a los enteropatógenos. El frío puede afectar la viabilidad de *Shigella* spp.
- Para el estudio de toxinas de *Clostridium difficile* la muestra se puede mantener hasta 48 horas refrigerada a 4 ° en la heladera.
- Es preferible enviar las muestras para estudio virológico sin medio de cultivo, pues este diluye las partículas virales disminuyendo la sensibilidad. Si su envío se retrasa mucho utilizar medio de transporte y recipientes colocados en hielo.

E.- OBSERVACIONES

- Las muestras para coprocultivo, deberán tomarse antes de la administración de antimicrobianos y preferiblemente antes de tomar antidiarreicos.
- Indicar siempre el juicio diagnóstico de presunción y si el paciente es menor de un año.
- Solicitar las investigaciones especiales explícitamente (*C. difficile*, *C. perfringens*, *S. aureus* ,etc)
- En el caso de búsqueda de portadores de *Salmonella*, se deberá fundamentar adecuadamente el pedido y se necesitan 3 muestras negativas para asegurar que el paciente no es portador.
- Muestras para investigación de enteroparásitos ver Sección Parasitología

6.2 HISOPOS RECTALES

Para conocer la etiología en el caso de una gastroenteritis aguda se debe utilizar una muestra de materia fecal. Los hisopos rectales solo se aceptarán en casos en que no se puedan obtener heces, por ejemplo en neonatos o adultos debilitados, o internados en unidades de cuidados intensivos. Se ha demostrado eficaz en el aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*, *Campilobacter* spp, *Shigella* spp, *C. difficile*, virus del Herpes simplex y en portadores anales de *Streptococcus pyogenes*. No es válido para la búsqueda de antígenos.

A.- MATERIAL NECESARIO

- Hisopos con medio de transporte
- Guantes.

B.- OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- Para realizar la toma se introduce el hisopo sobrepasando el esfínter anal y se rota para hacer la toma de las criptas anales, mantener allí durante 30 segundos para que se absorban los microorganismos y retirar.
- Una vez realizado se introduce en un medio de transporte.

C.- TRANSPORTE

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

D. OBSERVACIONES

Son muestras inadecuadas:

Hisopos rectales secos.

Hisopos rectales sin medio de transporte.

Hisopos con heces cuando se busquen bacterias diferentes de enteropatógenos.

6.3 MUESTRAS DIGESTIVAS ALTAS

6.3.1 LAVADO GÁSTRICO

Muestra para investigación de BK preferentemente en niños.

MATERIAL NECESARIO

- Tubo de lavado gástrico
- Recipientes estériles de boca ancha, tubos con tapón de rosca.
- Suero fisiológico estéril .

TOMA DE MUESTRAS

- Lavado gástrico para estudio de micobacterias.

VOLUMEN MÍNIMO

- Todo lo que se recoge.

TRANSPORTE

- Envío rápido al laboratorio, de lo contrario refrigerar a 4°C hasta 24 horas.

6.3.2 BIOPSIA GÁSTRICA-ANTRAL OBTENIDA POR ENDOSCOPIA

Se utiliza para la búsqueda de *Helicobacter pylori*, agente causal en casos de úlceras duodenales o gástricas.

A.- MATERIAL NECESARIO

- FibrogastroscoPIO y material complementario.
- Tubos con suero fisiológico (1 ml) para pequeñas muestras.

- Formol para muestras a enviar a anatomía patológica.

B.- TOMA DE MUESTRAS

- Introducir el endoscopio y recoger muestras de biopsia de las lesiones sospechosas. .
- Es fundamental obtener varias muestras tanto de la base como de los cuatro cuadrantes del margen de la úlcera, sin olvidar la biopsia de la mucosa antral.
- Las biopsias para estudio bacteriológico se colocan en tubo con suero fisiológico.

C.-TRANSPORTE

- Transporte inmediato al laboratorio

6.4 MUESTRAS DIGESTIVAS BAJAS

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

A- MATERIAL NECESARIO

- Sigmoidoscopio, rectoscopio y material complementario.
- Pipetas.
- Tubos de tapón de rosca estériles con o sin solución salina.
- Tubo de transporte para anaerobios.

B-TOMA DE MUESTRA

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

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

C-TRANSPORTE

- En tubo de tapón de rosca. Si la muestra es pequeña o se va a dilatar el envío se emplearán tubos con solución salina para evitar la desecación.
- El envío debe ser inmediato y la conservación adecuada; si se sospecha *C. difficile* emplear medio para transporte de anaerobios. Para la búsqueda de parásitos se envía inmediatamente al laboratorio, en su defecto las muestras tomadas con pipeta se incluirán en fijador. (Ver Sección Parasitología)

7 TRACTO GENITAL

7.1 TRACTO GENITAL FEMENINO

7.1.1 EXUDADO VAGINAL

Esta muestra se utiliza para conocer la etiología en casos de vaginitis y vaginosis. Puede utilizarse para búsqueda de portadoras de *Streptococcus* del grupo B en embarazadas. Los exudados vaginales se realizan en el Laboratorio de Microbiología. En el único caso que se aceptarán muestras realizadas fuera del Laboratorio es si la paciente se encuentra internada e imposibilitada de movilizarse.

A- MATERIAL NECESARIO

- Camilla ginecológica
- Espéculo estéril
- Hisopos de alginato cálcico o Dracon, con medio de transporte.
- Tubo con 1 ml de suero fisiológico y pipeta descartable.

Condiciones previas: La paciente no debe tomar antibióticos, ni utilizar soluciones antisépticas vaginales, óvulos ni pomadas en los días previos a la recolección de la muestra. No debe mantener relaciones sexuales 48 hs antes de la toma de muestra.

B-TÉCNICA

- Con la paciente en posición ginecológica se introducirá un espéculo “sin lubricante” (si fuera necesario lubricar, utilizar solo agua tibia)
- Recoger la muestra, bajo visión directa, con un hisopo del fondo del saco vaginal posterior.
- Repetir la operación con un segundo hisopo.
- Recoger con la pipeta una muestra de fondo de saco y descargar en el tubo con suero fisiológico.

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Se obtendrán dos hisopos, uno destinado al estudio microscópico y otro al cultivo.

La muestra en suero fisiológico se destinará al examen en fresco para investigación de *Trichomonas vaginalis*.

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

El envío de la muestra debe ser inmediato siempre que sea posible. Cuando la muestra no pueda procesarse antes de 15 minutos deberán emplearse hisopos con medio de transporte tipo Stuart-Amies, que se mantendrán a temperatura ambiente, o preferentemente, en estufa 35-37°C hasta su procesamiento, que deberá ser antes de 3-6 horas. El examen en fresco deberá observarse inmediatamente o de lo contrario mantener en estufa a 37°C por no más de 1 hora.

E- OBSERVACIONES

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

7.1.2 EXUDADO ENDOCERVICAL

Esta muestra se utiliza para el diagnóstico etiológico en caso de cervicitis. La toma de muestra se debe realizar en el Laboratorio de Microbiología. En el único caso que se aceptarán muestras realizadas fuera del Laboratorio es si la paciente se encuentra internada e imposibilitada de movilizarse.

A- MATERIAL NECESARIO

- Camilla ginecológica.
- Espéculo estéril.
- Torundas para limpieza.
- Hisopos de alginato cálcico o Dracon con medio de transporte tipo Stuart o Amies.
- Hisopos con medios de transporte específicos para *Mycoplasma* y/o *Chlamydia*.

B- TÉCNICA

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

Limpiar el exocérnix de secreciones vaginales, con una torunda seca.

Bajo visión directa comprimir cuidadosamente el cérvix con palas del espéculo y introducir un hisopo en el canal endocervical con un suave movimiento de rotación.

Repetir la operación con el segundo hisopo.

C-NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Deberán recogerse dos torundas, una destinada al examen microscópico y otra al cultivo. Para investigación de *Mycoplasma* y *Chlamydia* se recogerá una tercera torunda con medio de transporte específico.

D-TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

El envío de la muestra debe ser inmediato. Si no es así se compromete la viabilidad de *Neisseria gonorrhoeae*.

E- OBSERVACIONES

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

7.1.3 EXUDADOS URETRALES

Se utiliza para el diagnóstico etiológico en casos de síndrome uretral aguda en la mujer después que se han descartado otras causas. Las etiologías a investigar son *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*.

A- MATERIAL NECESARIO

- Hisopos uretrales finos, con varilla de alambre no excesivamente flexible, de alginato cálcico o Dracon con medio de transporte tipo Stuart o Amies.
- Gasas estériles.

B- TÉCNICA

Limpiar cuidadosamente la mucosa circundante con gasas estériles.

Introducir el hisopo suavemente con un movimiento de rotación hasta penetrar unos 2 cm dentro de la uretra (3-4 cm para la investigación de *Chlamydia trachomatis*) Repetir operación con un segundo hisopo.

Realizar frotis para el examen directo.

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

C-NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Deberán enviarse dos hisopos, uno para el examen directo y otro para el cultivo.

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

E-OBSERVACIONES

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

7.1.4 EXUDADOS RECTALES

.A-MATERIAL NECESARIO

- Guantes
- Hisopos con medio de transporte (Stuart o Amies)

B-TÉCNICA

Introducir el hisopo suavemente a través del esfínter anal.

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

Se intentará evitar el contacto con materia fecal.

Cuando el hisopo salga manchado de heces, deberá tomarse una nueva muestra.

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLÚMEN.

Basta con un solo hisopo para cultivo, dado que la visión microscópica no es representativa.

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

El envío de la muestra debe ser inmediato siempre que sea posible . Cuando la muestra no pueda procesarse antes de 15 minutos, deberán emplearse hisopos con medio de transporte. (Stuart o Amies), que se mantendrán en estufa a 35-37°C hasta su procesamiento.

E- OBSERVACIONES

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

7.1.5 ENDOMETRIO

Es un procedimiento médico.

Se ha cuestionado ampliamente la utilidad de estas muestras para el diagnóstico de endometritis. Los métodos no invasivos, como los hisopos a través del cervix , se contaminan sistemáticamente , obteniéndose resultados similares en mujeres con endometritis y en mujeres sanas.

Se han descrito varios métodos intentando eliminar la contaminación cervical, como son la aspiración uterina a través de un catéter de doble luz o de hisopos protegidos o tomando las muestras con hisopo o aspirando a través de un catéter previa dilatación y decontaminación del cervix con yodo povidona al 10%.

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

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

No se deben enviar muestras de loquios para hacer diagnóstico de endometritis postparto ya que no son representativas de lo que sucede en el tracto genital superior y solo brindan información del contenido bacteriano vaginal

7.1.6 CULDOCENTESIS

Es un procedimiento médico.

A- MATERIAL NECESARIO

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

B- TÉCNICA

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

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Se intentará obtener 1-5 ml de muestra.

D- TRANSPORTE Y CONSERVACION

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

E- OBSERVACIONES

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

7.1.7 TROMPAS Y OVARIOS

Es un procedimiento médico.

A- MATERIAL NECESARIO

- El material quirúrgico que requiere la técnica
- Agujas y jeringas estériles.
- Contenedores estériles.
- Medio de transporte para anaerobios.
- Hisopos de alginato cálcico o cepillos de broncoscopía.

B- TÉCNICA

Beben obtenerse por laparotomía o laparoscopía.

La muestra se recogerá directamente en la luz de la trompa mediante hisopo o con un cepillo de broncoscopía.

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

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLÚMEN

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

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

. Cuando no sea posible, emplear medios de transporte tipo Stuart-Amies o medios de transporte específico para anaerobios que se mantendrán a temperatura ambiente o preferentemente a 35-37°C.

7.1.8 VULVA

A- MATERIAL NECESARIO

- Hisopos.
- Alcohol etílico al 70%.
- Yodo Povidona al 10%.
- Jeringas y agujas estériles.

B-TÉCNICA

Realizar antisepsia de piel con alcohol 70% primero y luego yodo povidona. Para las superficies mucosas, limpiar con agua estéril, no usar alcohol ni yodóforo.

Frotar con el hisopo sobre las lesiones y si hay abscesos aspirarlos con jeringa y aguja (Bartolinitis)

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLÚMEN

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

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

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

7.1.9 GANGLIOS LINFÁTICOS INGUINALES

Es un procedimiento médico.

A- MATERIAL NECESARIO

- Gasas estériles.

- Alcohol etílico al 70%.
- Povidona yodada al 10%.
- Jeringa y aguja o material quirúrgico.
- Contenedor estéril.

B- TÉCNICA

Desinfectar la piel con alcohol y luego povidona yodada, dejándola secar durante 1 minuto.

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

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLÚMEN

La máxima cantidad de muestra que se pueda obtener.

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

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

E- OBSERVACIONES

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

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

7.1.10 LÍQUIDO AMNIÓTICO

Es un procedimiento médico.

A- MATERIAL NECESARIO

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

B- TÉCNICA

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

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLÚMEN

Se intentará obtener una muestra de 1-5 ml .

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

Deberá enviarse al laboratorio lo antes posible para su procesamiento.

E- OBSERVACIONES

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

7.2 TRACTO GENITAL MASCULINO

7.2.1 EXUDADOS URETRALES

Se utiliza para confirmar el diagnóstico clínico de uretritis y valorar su etiología. No es adecuado si el paciente no tiene corrimiento. La toma de muestra se debe realizar en el Laboratorio de Microbiología, de preferencia en la mañana y con por lo menos 4 horas de retención urinaria.

A- MATERIAL NECESARIO

- Hisopos finos, de alginato de calcio o Dacron con medio de transporte tipo Stuart-Amies.
- Gasas estériles.

- Asa de siembra de platino
- Portaobjetos.
- Suero fisiológico.

B- TÉCNICA

Cuando exista exudado franco puede recogerse con un hisopo o con un asa bacteriológica.

Se le solicita al paciente que retraiga el prepucio y lo mantenga así durante todo el procedimiento.

Si no hay corrimiento franco puede estimularse exprimiendo la uretra desde la raíz del pene.

Cuando no se obtenga exudado se introducirá un hisopo suavemente con un movimiento de rotación hasta penetrar unos 2 cm. en la uretra. Repetir la operación con un segundo hisopo.

Tomar con ansa bacteriológica una gota de secreción y colocar en un portaobjetos con una gota de suero fisiológico para investigación de *Trichomonas vaginalis* (examen en fresco).

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Deberán obtenerse dos hisopos, uno destinado al examen directo y otro al cultivo y la muestra para examen en fresco.

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

Debe ser inmediato. Cuando no puedan procesarse las muestras antes de 15 minutos, se utilizarán hisopos con medio de transporte Stuart-Amies que se mantendrán a temperatura ambiente o preferentemente en estufa 35-37°. El examen en fresco deberá observarse de inmediato.

Las muestras se procesarán siempre que se pueda antes de 3 horas y como máximo en un plazo de 6-12 horas.

E- OBSERVACIONES

La muestra ha de recogerse preferentemente antes de la primera micción de la mañana. Si esto es imposible, esperar al menos una hora tras la última micción para recogerla. En algunos casos puede ser rentable realizar la investigación de patógenos de transmisión sexual en la orina del primer chorro.

7.2.2 MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE PROSTATIS

En el caso de prostatitis aguda el diagnóstico etiológico se realiza a través del urocultivo y hemocultivos. Las prostatitis crónicas pueden ser de etiología bacteriana o no, por lo cual se valorará mediante las pruebas diagnósticas que se detallan a continuación.

A- MATERIAL NECESARIO

Técnica de Meares Stamey

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

Frasco 1 : Primera orina.

Frasco 2: Micción media premasaje.

Frasco 3: Masaje prostático.

Frasco 4: Orina post masaje.

B- TÉCNICA

- Retraer el prepucio y limpiar el meato y el glande igual que para el urocultivo.
- Pedir al paciente que orine, recogiendo los primeros 10 ml en el primer contenedor "F: 1".
- Recoger los siguientes 10 ml en el segundo contenedor " F: 2". Esta porción corresponde a la "micción media".
- Interrumpir la micción antes de que se haya vaciado totalmente la vejiga.
- Hacer un masaje prostático y recoger el fluido en el tercer contenedor " F:3" (masaje prostático)

- Si no se produce fluído, presionar la uretra en su totalidad 30 segundos. Tras el masaje, acabará saliendo fluído prostático por el meato.
- Finalmente se pedirá al paciente que orine y se recogerán los 10 ml primeros de orina en un cuarto recipiente “ F: 4 “ (orina postmasaje)

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

FRASCO 1: 10ml

FRASCO 2: 10 ml

FRASCO 3: Toda la muestra que se obtenga.

FRASCO 4: 10 ml

D- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN:

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

E- OBSERVACIONES

- Se realizarán cultivos cuantitativos. Cuando el número de bacterias del frasco 1 es mayor al del frasco 2 y frasco 4 se considera que las bacterias son de origen uretral.
- Cuando el número de bacterias de los frascos 3 y 4, es por lo menos 10 veces superior al de los frascos 1 y 2 se atribuye a colonización prostática.
- Las muestras de semen no son adecuadas para cultivo, al estar sistemáticamente contaminadas y los resultados obtenidos no son representativos de los microorganismos aislados en próstata.
- Dado lo engorroso que resulta la toma de estas muestras, en 1997 Nickel propuso la realización de un método diagnóstico alternativo utilizando el cultivo cuantitativo y la observación microscópica de la orina antes y después del masaje prostático. La sensibilidad y especificidad de este método se encuentra en el entorno del 90%. En este caso se debe demostrar un aumento en el recuento de bacterias en la muestra post masaje prostático para hacer el diagnóstico de prostatitis crónica bacteriana.

7.3 MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DE CHLAMYDIAS Y MYCOPLASMAS UROGENITALES.

Para estas muestras deberán seguirse las directivas las directrices de cada laboratorio, ya que hisopos, medios, transporte, etc dependen de la técnica disponible en cada laboratorio.

7.3.1 MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN DE CHLAMYDIAS

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

A- MATERIAL NECESARIO

- Espátulas
- Hisopos aportados por el laboratorio de Microbiología.

B- TÉCNICA

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

C- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

- Generalmente es suficiente con un hisopo destinado exclusivamente al diagnóstico de Chlamydia.

D-TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

Las muestras que no puedan ser procesadas de inmediato consultar al laboratorio sobre transporte y conservación más adecuada para la técnica en uso en ese momento.

7.3.2 MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN DE MYCOPLASMAS UROGENITALES

A-MATERIAL NECESARIO

- Hisopos (Pedir al laboratorio de Microbiología según técnica en uso)

B-TÉCNICA

Hisopado de la zona a investigar generalmente cervix o uretra femenina o masculina

C-NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Es suficiente con un hisopo destinado a este estudio.

D-TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

Las muestras que no puedan ser procesadas de inmediato consultar al laboratorio sobre transporte y conservación más adecuada para la técnica en uso en ese momento.

8 BIOPSIAS

Es un procedimiento médico

A. MATERIAL NECESARIO.

- El material quirúrgico estéril que precise la técnica empleada para la obtención de las biopsias de distintas localizaciones.
- Recipientes estériles con tapa de rosca.
- Suero salino estéril.
- Jeringas y agujas estériles.
- Sistemas de transporte para anaerobios.

B. TÉCNICA

Muestras sólidas: Se obtendrá un bloque de tejido por escisión quirúrgica procurando incluir las zonas más afectadas, y cuando las lesiones estén bien delimitadas se intentará incluir también el borde activo de la lesión.

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

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN.

Muestras sólidas: Se recomienda obtener una pieza de al menos 1-5 cm³.

Muestras líquidas: 5-10 ml.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN.

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

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

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

El envío y procesamiento de estas muestras debe ser inmediato.

E. OBSERVACIONES.

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

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

9. MUESTRAS PARA ESTUDIO INMUNOLÓGICO DE LAS INFECCIONES BACTERIANAS

La respuesta del huésped a las infecciones bacterianas se estudia por diversas técnicas que detectan la presencia de anticuerpos circulantes, de los diferentes tipos, según se trate de una infección aguda o crónica. Aunque las técnicas son bien diferentes según el tipo de agente involucrado, complejidad y disponibilidad de recursos del laboratorio que va a realizar la investigación, para la mayoría se requieren 10 cc de sangre sin anticoagulante en tubo seco. Siempre es conveniente antes de extraer la sangre, preguntar en el laboratorio acerca del agente que se quiere investigar, disponibilidad de reactivos, número de muestras. La mayoría de las investigaciones serológicas se benefician de la extracción de dos muestras pareadas de sangre separadas por 15-20 días.

10. MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN DE AGENTES INFECCIOSOS POR TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Prácticamente en todos los especímenes biológicos se pueden investigar agentes infecciosos por técnicas de biología molecular mediante la detección de los ácidos nucleicos de los microorganismos o sus productos. Como el número de técnicas disponibles es muy amplio y por ser muestras con requerimientos específicos en cuanto a tipo de producto biológico a analizar, conservación (cadena de frío) y transporte su realización, debe ser coordinada previamente con el Laboratorio de Microbiología.

Sección Parasitología y Micología

Profesor Adjunto. Dra. RAQUEL BALLESTÉ ALANÍZ
Profesor Adjunto. Dr. ROBERTO SALVATELLA AGRELO

TOMA DE MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO Y MICOLÓGICO

INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades parasitarias contribuyen en forma importante a los problemas médicos, económicos y sociales en el ámbito mundial; su transmisión está condicionada con frecuencia por las condiciones sanitarias y socio-culturales entre otras. Factores ambientales como altitud, clima, ríos, etc. desempeñan un rol importante, estando los esfuerzos de control destinados a romper el ciclo vital del parásito en uno o varios puntos del ciclo, ya sea eliminando un vector, asegurando el suministro de agua depurada o desarrollando medios sanitarios para la eliminación de excretas o destruyendo el reservorio de infección.

En este contexto, la incidencia de algunas enfermedades parasitarias endémicas ha disminuido en algunas partes del mundo, mientras que otras parasitosis se han convertido en un problema de salud pública; parásitos emergentes como *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli*, *Microsporidium*, entre otros; que causan infecciones graves en pacientes inmunodeprimidos, representan un problema creciente.

Con relación a las enfermedades micóticas, se destaca que el interés por la micología médica ha sufrido un cambio radical en la última década. La atención creciente por este grupo de agentes (hongos), ha sido necesaria debido al incremento en la cifra de pacientes inmunodeprimidos, la pandemia de SIDA en especial, ha derivado en una mayor atención hacia las micosis y ha creado conciencia en los médicos clínicos en lo que respecta a este tema. A ello se suma el aumento de pacientes con tratamiento prolongados con antibióticos de amplio espectro, corticosteroides, inmunosupresores, cirugía mayor, etc. En suma el avance en la tecnología médica y el advenimiento de la infección por VIH, hacen que micosis como criptococosis, histoplasmosis, candidiasis, aspergilosis, no constituyen ya hallazgos raros y los agentes causales empiezan a encontrarse cada vez con mayor frecuencia en los laboratorios. Es necesario que los médicos sean cada vez más conscientes de los diversos síntomas y signos clínicos de las enfermedades micóticas y de las formas adecuadas de recoger los especímenes y transportarlos al laboratorio.

Tanto para las parasitosis como para las micosis, el diagnóstico correcto requiere que el médico considere:

- 1) Que la sintomatología y signología clínica que presenta el paciente pueden ser causadas por un parásito o un hongo.
- 2) Que se obtengan las muestras adecuadas en cantidad y calidad y se transporten al laboratorio en forma correcta.
- 3) Que el laboratorio examine en forma competente los especímenes.
- 4) Que los resultados obtenidos por el laboratorio sean debidamente informados al médico tratante.
- 5) Que estos resultados sean interpretados en forma correcta.

El diagnóstico de las enfermedades parasitarias se establece en la mayoría de los casos por la demostración morfológica del parásito, de sus formas evolutivas o estructuras parasitarias (examen parasitológico) o por la respuesta inmune a ellos (estudios inmunológicos).

El diagnóstico de las enfermedades micóticas se establece con la demostración morfológica del hongo (examen micológico directo) y el aislamiento e identificación del agente fúngico en los cultivos. También se utilizan en el diagnóstico de las micosis estudios inmunológicos ya sea para detección de anticuerpos o antígenos circulantes.

La eficacia con la cual cualquier paciente con una afección parasitaria o micótica potencial, es valorado y tratado adecuadamente depende de un correcto diagnóstico de laboratorio, a su vez para que ello sea posible es imprescindible que la muestra seleccionada para el estudio sea adecuada en cantidad y calidad, sea transportada y procesada rápidamente en el laboratorio; solo de esta forma se evitarán costos inútiles y falsos negativos que van en detrimento del diagnóstico.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es actualizar los conceptos, con relación a la toma, transporte y conservación de las muestras para estudio parasitológico y micológico, haciendo énfasis en aquellas muestras con las que se trabaja frecuentemente en la práctica clínica y en los puntos críticos que determinarán la calidad de la muestra a estudiar y por ende el resultado que el laboratorio informará al médico solicitante.

∇ MUESTRAS PARASITOLÓGICAS

Conceptos generales.

- Las muestras deben estar acompañadas de su respectiva solicitud, en la que deben constar todos los datos solicitados por el laboratorio y los que el médico considere relevante para el estudio.
- El tipo de muestra recogida dependerá del parásito sospechado. El conocimiento del ciclo vital del parásito ayuda a determinar el tipo, la cantidad y la frecuencia de las muestras necesarias para el diagnóstico.
- Los tubos, viales, frascos (vidrio o plástico) donde se recolecten las muestras deben estar limpios, preferentemente estériles y con tapón hermético y correctamente rotulado con nombre del paciente, número de registro, procedencia, y fecha, entre otros.

Tipos de muestras mas usuales.

Las muestras solicitadas con mayor frecuencia para estudio parasitológico son:

- Materia fecal. (examen coproparasitario).
- Muestra de margen anal. (espátula adhesiva).
- Muestras macroscópicas de parásitos sobre todo entéricos (helminths).
- Escamas de piel (para diagnóstico de sarna).
- Muestras macroscópicas de secreciones u otras con pseudoparásitos (para identificación).

1. MUESTRAS PARA ESTUDIO PARASITOLÓGICO

1.1. Muestras para estudio parasitológico de tracto gastrointestinal.

1.1.1. Materia fecal.

El examen parasitológico de heces conocido como examen coproparasitario, es un conjunto de técnicas diagnósticas que constituyen la indicación metodológica para la identificación de la mayoría de las enteroparasitosis causadas por protozoarios o helmintos.

La indicación de un examen coproparasitario, debe tener en cuenta las características del cuadro clínico que presenta el paciente, y debe atender al parásito que se sospecha, teniendo como premisa que esta metodología es útil para protozoarios y helmintos, cuyas formas evolutivas (trofozoítos, quistes, oocistos, huevos, larvas, adultos) se emiten con las materias fecales.

Para obtener resultados satisfactorios de un examen coproparasitario, debe cumplir con los siguientes requisitos:

- 1) Solicitud de Examen coproparasitario.
- 2) Preparación del paciente.
- 3) Muestra correctamente obtenida.
- 4) Muestra seriada (3 muestras mínimas de materia fecal).

- 1) En la solicitud del examen, siempre debe constar además de los datos filiatorios del paciente, los datos clínicos (síntomatología, signología clínica relevante, diagnóstico clínico presuntivo), antecedentes personales, familiares y ambientales a destacar. Antecedentes personales de inmunodepresión, de viaje al extranjero (zonas endémicas de parasitosis exóticas o de baja prevalencia para nuestro medio); antecedentes ambientales como vivienda sin agua potable, saneamiento, etc.; antecedentes familiares de parasitosis (parasitosis de grupo o parasitosis con una fuente de infección común para todos los integrantes), no deben obviarse en la solicitud, ya que tienen implicancias en el procesamiento de la muestra.

Es importante saber si el paciente ha recibido antidiarreicos, antiparasitarios y/o antibióticos y en tal caso cuales; se indicará el examen coproparasitario antes de iniciar tratamiento con cualquiera de los fármacos mencionados, si es posible.

Todos estos datos pueden adaptar o orientar la secuencia de técnicas diagnósticas que ejecutará el especialista en el laboratorio y son condición imprescindible para obtener resultados fidedignos.

- 2) Debe indicársele al paciente la realización de un régimen alimentario 48-72 hs. antes de realizarse el estudio, libre de frutas, verduras y grasas, dado que preparaciones con abundantes residuos o grasas, obstaculizan la visualización microscópica, pudiendo ser causa de falsos negativos.
- 3) Una muestra correcta de materia fecal para realizar un examen coproparasitario debe ser suficiente (mayor de 50 grs.), debe ser emitida recientemente pudiéndose conservar en heladera hasta unas 8-12 horas, debe ser enviada al laboratorio correctamente rotulada con nombre completo del paciente y fecha de emisión, en frasco de vidrio o plástico

transparente, limpio, seco y de boca ancha, con tapa de rosca. La muestra debe recolectarse sin mezcla de orina, para evitar el deterioro de parásitos.

- 4) La muestra debe ser seriada, considerándose que muestras únicas solo permiten diagnósticos positivos en 60% de las materias fecales con parásitos; que tanto protozoarios como helmintos tienen ciclos de eliminación de quistes y huevos, con períodos negativos.

Existen diferentes esquemas sobre la secuencia de recolección de materias fecales para realizar un examen coproparasitario; algunos de los más usados indican: 3 muestras en días alternos o 3 muestras separadas 1 semana entre sí, teniendo siempre presentes las premisas antes mencionadas para la colecta de la muestra.

En Suma:

A.- MATERIAL NECESARIO: Frasco de vidrio o de plástico, limpio y seco, transparente, de boca ancha y con tapa de rosca. No se deben utilizar recipientes con medios de transporte.

B.- TÉCNICA: Si son formadas o pastosas se toma una porción del recipiente donde hayan sido emitidas, y se transfieren al frasco que se enviará al laboratorio. En caso de que sean líquidas puede emplearse jeringa para pasar la muestra al frasco de envío. Se descartarán muestras contaminadas con orina.

C.- VOLUMEN MÍNIMO: heces formadas o pastosas: tamaño de una nuez. Heces líquidas: 10-15 ml.

D.- TRANSPORTE: Deben enviarse lo antes posible al laboratorio, de no ser así se podrán mantener refrigeradas a 4 °C hasta 8-12 hs, antes de ser procesadas. Nunca se guardarán en estufa o a temperatura ambiente hasta el envío.

1.1.2. Espátula adhesiva.

Como ya se mencionó, el examen coproparasitario es útil para aquellos parásitos, en los que alguna de sus formas evolutivas se emiten mezcladas con las materias fecales. Esta consideración excluye a *Enterobius vermicularis* (oxiuro), dadas las características biológicas del ciclo de este parásito, en el cual la hembra realiza la oviposición en la margen anal; por lo que el diagnóstico se realiza buscando huevos mediante el método de la espátula adhesiva o método de Graham.

A.- MATERIAL NECESARIO: Espátula adhesiva artesanal (baja lenguas con cinta engomada hacia afuera, en uno de los extremos, colocada en el interior de un tubo de vidrio o plástico transparente) o espátula adhesiva comercial. Ambas deben ser suministradas por el laboratorio.

B.- TÉCNICA: Debe tomarse en la mañana cuando el paciente se despierta, sin previa higiene de la margen anal, se saca la espátula adhesiva del recipiente que la contiene y se aplica 2 o 3 veces la zona engomada de la cinta alrededor del ano. Se coloca la espátula

en el recipiente, se guarda refrigerada a 4 °C y se realiza la misma operación durante 3 mañanas consecutivas.

C.- TRANSPORTE: Debe enviarse lo antes posible al laboratorio, de no ser posible se mantendrá refrigerada a 4 °C hasta 12 horas antes de ser procesada.

D.- MUESTRAS INADECUADAS: No sirven espátulas contaminadas con heces, dado que no se puede realizar la lectura microscópica.

1.1.3. Muestras macroscópicas de parásitos entéricos.

Ocasionalmente el paciente, concurre a la consulta con ejemplares adultos de helmintos como *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, proglótides de *Taenia sp.*, encontrados en la margen anal. Dichas muestras deberán remitirse al laboratorio para su identificación.

A.-MATERIAL NECESARIO: Frasco de vidrio o de plástico transparente, de boca ancha, con tapa de rosca. Suero fisiológico o alcohol.

B.- TÉCNICA: La muestra debe colocarse en el recipiente seleccionado para dicho fin, cubierta con suero fisiológico o alcohol.

C.- TRANSPORTE: Si la muestra se coloca en suero fisiológico debe enviarse inmediatamente al laboratorio, de lo contrario se optará por conservarla en alcohol, no debiéndose demorar el envío al laboratorio mas allá de 24 hs.

D.- MUESTRAS INADECUADAS: No deberán enviarse muestras sin el agregado de suero fisiológico o alcohol o agua destilada, ya que la desecación del parásito puede dificultar la identificación.

1.1.4. Muestras macroscópicas con pseudoparásitos .

Es frecuente la eliminación de moldes mucosos u otras estructuras en materia fecal, que pueden ser confundidas sobre todo con helmintos entéricos. En dichas situaciones el material se debe remitir al laboratorio para su identificación.

A.-MATERIAL NECESARIO: La muestra debe colocarse en un frasco de vidrio o de plástico transparente, de boca ancha, con tapa de rosca, cubierta con suero fisiológico o alcohol.

B.- TRANSPORTE: Debe enviarse inmediatamente al laboratorio, de lo contrario se optará por conservarla a 4 °C, no debiéndose demorar el envío al laboratorio mas allá de 24 hs.

1.1.5. Sondeo duodenal.

Esta muestra se utiliza fundamentalmente en el diagnóstico de algunas enteroparasitosis, fundamentalmente giardiasis, cuando los coproparasitarios son negativos; también puede ser útil en el diagnóstico de distomatosis, entre otras. No es sustituto del anterior, sino que es un examen complementario que se reserva para situaciones clínicas particulares.

La técnica es de resorte del especialista. El aspirado se coloca en un tubo de vidrio plástico transparente, limpio y seco. La cantidad de la muestra es de 2-5 ml y deberá transportarse inmediatamente al laboratorio para su estudio. De no ser posible se podrá mantener refrigerada a 4 °C no mas de 2 a 4 horas. El estudio se coordinará siempre con el laboratorio, de forma tal que se encuentre el parasitólogo en el momento de analizar la muestra.

1.1.6. Aspirado de lesiones intestinales por rectosigmoidoscopia.

Cuando clínicamente se sospecha amibiasis y los coproparasitarios seriados son negativos, se puede realizar una rectosigmoidoscopia, la que permitirá observar la presencia de lesiones en la mucosa y aspirar material para estudio parasitológico e incluso biopsiar la zona afectada.

La técnica es de resorte del especialista. El material aspirado de las lesiones se colocará en tubo de vidrio o plástico, preferentemente estéril. La cantidad mínima de la muestra a enviar debe ser de 1-2 ml, se transportará inmediatamente al laboratorio. De no ser posible se podrá mantener refrigerada a 4 °C no mas de 2-4 horas. El estudio se coordinará siempre con el laboratorio, de forma tal que se encuentre el parasitólogo en el momento de analizar la muestra.

1.1.7. Biopsias de intestino.

Las biopsias de intestino, pueden ayudar en el diagnóstico de algunas enteroparasitosis (giardiasis, amibiasis, entre otras), sin embargo no se debe olvidar que estas técnicas invasivas, quedarán reservadas para situaciones clínicas, en las que se hallan agotado todas las metodologías diagnósticas clásicas no invasivas.

La técnica biopsica es de resorte del especialista. La biopsia se colocará en tubo de vidrio estéril, con el agregado de 1-2 ml de suero fisiológico estéril, en forma proporcional al tamaño de la muestra, para evitar la desecación. Para el transporte y conservación se tendrán las mismas consideraciones mencionadas en los ítem 1.1.5 y 1.1.6.

1.2. Muestra para estudio parasitológico de piel.

Este examen se solicita habitualmente para el diagnóstico de sarna o escabiosis. Es ideal que la toma de muestra para este estudio se realice en el laboratorio, siendo el especialista (médico Parasitólogo o especialista en Laboratorio Clínico) quien seleccione la zona mas representativa de la afección para realizar la toma.

A.- MATERIAL NECESARIO: Cajas de Petri estéril o láminas de vidrio limpias y hoja de bisturí.

B.- TÉCNICA: Se realizará intenso raspado de la piel, con hoja de bisturí en la zona afectada. Se seleccionará preferentemente, las zonas en la que se observen micropápulas, trayectos, surcos o vesículas perladas.

Si se observan lesiones en cara anterior de puño o espacios interdigitales de manos o región inguinal, se seleccionarán estas zonas. Si la toma se realiza en el laboratorio las escamas de piel recolectadas se colocan directamente en las laminas de vidrio, si las mismas deben ser transportadas se recolectarán en caja de Petri.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es recomendable la realización de varias láminas para aumentar las posibilidades diagnósticas.

D.- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN: Si la toma de la muestra no se realiza en el laboratorio, debe enviarse dentro de las 24 horas, manteniéndose a temperatura ambiente.

E.- OBSERVACIONES: Se debe tener presente que el diagnóstico de sarna es clínico, epidemiológico y parasitológico y que este último tiene un porcentaje de falsos negativos que oscila entre 40-60%.

1.3. Muestras para estudio parasitológico en sangre.

El examen parasitológico en sangre, se realiza habitualmente para el diagnóstico de algunas parasitosis hemotésiduales como: enfermedad de Chagas, paludismo, filariasis, tripanosomiasis africana, entre otras. Excepto la enfermedad de Chagas, las otras parasitosis mencionadas son exóticas para nuestro medio; pero se debe tener presente que el aumento en la frecuencia de viajes a diversas partes del mundo, con fines turísticos, laborales u otros, hacen, por ejemplo, que en los últimos años en nuestro país aumentaran los casos de pacientes con paludismo, adquiriendo relevancia la realización de un diagnóstico clínico y de laboratorio correcto de esta parasitosis exótica para nuestro medio.

Métodos habituales para diagnosticar parásitos en sangre, son el examen en fresco de sangre y el estudio de películas de esta.

En relación a las películas de sangre, habitualmente se preparan 2 tipos: unas finas y otras gruesas.

Las preparaciones de películas finas, reciben el nombre de frotis y las gruesas reciben el nombre de gota gruesa o gota espesa.

Para el diagnóstico se prefiere la gota gruesa ya que tiene 16 a 30 veces mas sangre por campo de microscopio que un frotis, por lo que aumenta las posibilidades de detectar infecciones leves y disminuye el tiempo necesario para efectuar un examen fiable. En una gota gruesa bien preparada, se puede examinar aproximadamente en 5 minutos la misma cantidad de sangre que se examina en 30 minutos en un frotis. Sin embargo, si bien un parasitólogo experimentado puede determinar el parásito y la especie en una gota gruesa, esta técnica no es la ideal para observar las características morfológicas de los parásitos. Estas características morfológicas, particularmente la de los parásitos del paludismo o malaria, son mas precisas en los frotis y muchas veces estas preparaciones se requieren para la identificación definitiva de la especie. Por estas razones para los exámenes habituales se deben preparar tanto frotis como gotas gruesas.

1.3.1. Sangre en fresco.

Habitualmente para realizar un examen de sangre e fresco, la muestra debe obtenerse en el laboratorio; el mismo consiste en la observación de una gota de sangre recién obtenida entre lamina y laminilla. Es útil para la observación de tripanosomas y microfilarias (para esta última “parasitosis exótica” es recomendable obtener las muestras durante la noche).

1.3.2. Frotis de sangre.

A.- MATERIAL NECESARIO: Láminas de vidrio limpias, aguja estéril, jeringa estéril, material para desinfección de piel (algodón –alcohol 70°).

B.- TÉCNICA: La sangre para el examen, se puede obtener por punción digital, punción del lóbulo de la oreja o por venoclisis. Si se emplea alcohol al 70% para desinfectar el punto de punción se esperará que este se evapore completamente, antes de realizar la punción.

Se coloca una gota de sangre de 2 a 4 mm de diámetro, a 1 cm de uno de los extremos de un portaobjetos limpio y sin polvo; se apoya sobre una mesa o superficie plana, sosteniéndolo firmemente. Se toma un segundo portaobjetos, que se sostiene con el pulgar e índice de la mano hábil; este portaobjetos extensor se aplica sobre la superficie del primero en ángulo de 35-45° y deslizándolo en retroceso desde la gota de sangre, se extenderá con rapidez moderada, hasta que toda la sangre se haya extendido en una película de mediano espesor. El espesor de la extensión se puede ajustar cambiando el ángulo del portaobjetos extensor o la rapidez de extensión, o utilizando una gota mas grande o mas pequeña de sangre. En las extensiones de espesor óptimo, los leucocitos no deben estar demasiado próximos y los hematíes pueden superponerse en una parte de ellas, pero la distribución y separación de los hematíes son buenas hacia el extremo delgado.

El borde del portaobjetos extensor debe ser liso, de no ser así la extensión presentará flecos con abundantes leucocitos.

El frotis debe secarse agitando rápidamente al aire. El secado lento da lugar a una contracción artificial de las células.

El portaobjetos debe etiquetarse , marcando nombre del paciente, con lápiz en el extremo mas grueso de la película de sangre.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es recomendable la realización de 2 o 3 frotis como mínimo.

D.- TRANSPORTE: Deben enviarse al laboratorio inmediatamente para realizar las coloraciones, de no ser posible se mantendrán a temperatura ambiente, no mas 24 hs, ya que la sangre empieza a perder su afinidad por los colorantes entre las 24-72 horas.

E.- MUESTRAS INADECUADAS: En el caso de que la muestra de sangre se obtenga por venopunción, no debe usarse jeringas con anticoagulantes. Los anticoagulantes pueden causar distorsión morfológica de los parásitos al interferir en la tinción, sobre todo los estadios de plasmodios, apareciendo poco coloreados o degenerados. Sin embargo no alteran la morfología de microfilarias, ni de *Trypanosomas*.

No se debe cubrir toda la superficie del portaobjetos, una extensión buena comprende una porción mas gruesa y otra mas delgada, con una transición entre ambas; su aspecto tiene que ser liso y nivelado, sin ondulaciones, resaltes ni poros.

1.3.3. Gota gruesa.

A.- MATERIAL NECESARIO: Láminas de vidrio limpias, aguja estéril, jeringa estéril, material para desinfección de piel.

B.- TÉCNICA: La sangre para el examen, se puede obtener por punción digital, punción del lóbulo de la oreja o por venoclisis. Se debe colocar 2 o 3 gotas de sangre sobre el portaobjetos, dejando caer una encima de otra. Si la muestra se obtiene por digitopunción se presionará el pulpejo dejando caer las gotas directamente sobre el porta; si es por venopunción se dejará gotear directamente de la jeringa. Se deja secar a temperatura ambiente.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Igual que para el frotis.

D.- TRANSPORTE: Igual que para el frotis.

E.- MUESTRAS INADECUADAS: Una película gruesa, debe ser lo bastante delgada como para leer a su través un impreso; si es demasiado gruesa, se puede desprender del portaobjetos. Las películas gruesas no deben secarse en estufas, o cerca de mecheros, el exceso de temperatura puede fijar los eritrocitos y evitar la deshemoglobinización que posteriormente se realizará en el laboratorio antes de teñir la lámina.

1.3.4. Muestra de sangre para microhematocrito.

Esta técnica se utiliza sobre todo en lactantes y niños pequeños, para el diagnóstico parasitológico de enfermedad de Chagas. La misma permite la extracción de una cantidad pequeña de sangre, y aumenta las posibilidades diagnósticas, ya que en este procedimiento mediante centrifugación, se concentran los tripomastigotas de *T.cruzi* junto a los leucocitos, en la interfase eritrocitos-plasma, zona a partir de la cual se preparan las láminas para observación.

A.- MATERIAL NECESARIO: Tubos pequeños o Ependorff con anticoagulantes (citrato, EDTA o heparina), aguja estéril, jeringa estéril, material para desinfección de piel.

B.- TÉCNICA: La sangre para el examen, se obtiene por venopunción. Se coloca inmediatamente en el tubo seleccionado.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es suficiente con 1 a 2 ml de sangre.

D.-TRANSPORTE: Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento; ya que el diagnóstico se hace mediante la observación de las formas vivas de tripomastigotas de *T.cruzi*. De no ser posible, la extracción de sangre deberá hacerse en el laboratorio.

D.- MUESTRAS INADECUADAS: No se procesarán muestras de sangre, que tengan mas de 2-3 horas de extraídas, ya que algunos de los anticoagulantes mencionados alteran la viabilidad de los parásitos, en forma proporcional al tiempo de exposición.

1.3.5. Muestras de sangre para centrifugación diferencial.

Esta técnica de uso poco frecuente, se utiliza para el diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas. El fundamento de la misma es la concentración de los tripomastigotas de *T. cruzi*, luego de centrifugación de la sangre a diferentes velocidades.

A.- MATERIAL NECESARIO: Tubos de 10 ml, con anticoagulantes (citrato, EDTA o heparina), aguja estéril, jeringa estéril, material para desinfección de piel.

B.- TÉCNICA: La sangre para el examen, se obtiene por venopunción. Se coloca inmediatamente en el tubo seleccionado.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: 5-8 ml de sangre.

D.-TRANSPORTE: Igual que para el microhematocrito.

E.- MUESTRAS INADECUADAS: Igual que para el microhematocrito.

1.4. Muestra para estudio parasitológico en orina.

Las muestra de orina se puede utilizar para diagnóstico de trichomoniasis en el hombre y también es útil para buscar huevos de *Schistosoma haematobium* y microfilarias.

A.- MATERIAL NECESARIO: Frasco de plástico o de vidrio de boca ancha, con tapa de rosca hermético, limpio, seco, preferentemente estéril; jabón neutro.

B.- TÉCNICA: La muestra mas representativa es la de la primera micción de la mañana. Lavado de manos con agua y jabón, lavado de región genital retraer completamente el prepucio, que se mantendrá así hasta terminar de recoger la muestra, lavar el glande con jabón neutro y enjuagar con abundante agua; luego se depositará la orina en el recipiente.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: 5-10 ml de orina.

D.-TRANSPORTE: Para la búsqueda de trichomoniasis, la orina a estudiar debe ser recién emitida, por lo cual se enviará la muestra inmediatamente al laboratorio para su estudio, de no ser posible se realizará la toma en el laboratorio. Para las otras parasitosis se puede mantener en heladera, hasta 12 hs.

E.- MUESTRAS INADECUADAS: No se procesarán muestras de orina que tengan mas de 1-2 hs de emitida, dado que el diagnóstico de trichomoniasis se establece por la

visualización de los trofozoítos en movimiento; en períodos de tiempo mayores a los mencionados anteriormente, estos mueren no observándose las formas móviles.

1.5. Muestra para estudio parasitológico de exudado vaginal.

Se utiliza en el diagnóstico de trichomoniasis vaginal. Habitualmente la muestra de exudado vaginal para estudio parasitológico, micológico y bacteriológico se realiza en el laboratorio, tomándose muestras para el estudio de las diferentes agentes etiológicos involucrados.

A. PREPARACIÓN DEL PACIENTE: Debe indicársele a la paciente que 24 horas antes, no debe utilizar óvulos, pomadas o soluciones antisépticas vaginales; no mantener relaciones sexuales y para realizar el examen no debe estar menstruando.

B.- MATERIAL NECESARIO: Camilla ginecológica, espéculo estéril, pipetas Pasteur de plástico descartables o de vidrio, estériles; tubos vidrio con 1 ml de suero fisiológico estéril.

C.- TÉCNICA: Con la paciente en posición ginecológica, se introducirá el espéculo, se utilizará agua templada para lubricar si es necesario.
Se recogerá la muestra aspirando con la pipeta, de la zona de mayor exudado o del fondo de saco vaginal posterior. Se colocará la totalidad del exudado aspirado en el tubo con suero fisiológico.

D.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es suficiente con 0.5 a 1ml de exudado.

E.-TRANSPORTE: Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento; ya que el diagnóstico se hace mediante la observación de los trofozoitos móviles de *Trichomonas vaginalis*. Se puede guardar en estufa a 37°C no mas de 1 hora.

F.- MUESTRAS INADECUADAS: No son adecuadas las muestras de exudados en medios de transporte.

1.6. Muestra para estudio parasitológico de secreciones bronquiales.

En la expectoración se pueden observar larvas de diferentes helmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Srongyloides stercoralis*), membranas de un quiste hidático roto, ganchos o protoescólices de la hidátide, entre otros.

A.- MATERIAL NECESARIO: Frasco de plástico o de vidrio de boca ancha, con tapa de rosca hermético, limpio, seco, preferentemente estéril.

B.- TÉCNICA: La muestra a estudiar puede ser expectoración , aspirado traqueal o lavado bronquioloalveolar. Cualquiera de ellas se colocará en el recipiente seleccionado y se enviará la laboratorio.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: 2-5 ml.

D.-TRANSPORTE: Se enviará inmediatamente al laboratorio, de no ser posible se puede mantener en heladera, hasta 12 hs.

E.- OBSERVACIONES: Es frecuente el envío al laboratorio de moldes bronquiales mucosos, cuya morfología se confunde con parásitos (sobre todo helmintos), se enviará en las condiciones antes mencionadas; si es necesario se puede adicionar 1-2 ml de suero fisiológico para evitar desecación del material.

1.7. Biopsias para estudio parasitológico.

Las biopsias para este estudio, procederán de diferentes localizaciones anatómicas dependiendo de la parasitosis que clínicamente se sospeche. Por ejemplo, en úlceras de córnea se podrán investigar la presencia de amibas de vida libre como agente etiológico de dichas úlceras. Biopsias intestinales permiten el diagnóstico de giardiasis, amibiasis, criptosporidiasis, isosporidiasis, en aquellos casos en los que no se realizó el diagnóstico por las técnicas habituales; biopsias de ganglio pueden ayudar en el diagnóstico de leishmaniasis; ocasionalmente biopsias de músculo en el diagnóstico de triquinosis o sarcoidosis; biopsias de piel en el diagnóstico de leishmaniasis y amibiasis cutánea; entre otras.

Frente a cualquiera de estas parasitosis que se planteen, algunas frecuentes en nuestro medio y otras exóticas; es importante tener presente que siempre se coordinará con el laboratorio de parasitología la oportunidad para realizar la biopsia y las condiciones en las que debe enviarse la misma, en función de la parasitosis a estudiar. Es recomendable que además del estudio parasitológico se realice estudio histológico del material biopsico.

La mayoría de las biopsias para estudio parasitológico deben cumplir con las siguientes condiciones:

A.- MATERIAL NECESARIO: Frasco o tubo, de plástico o vidrio, con tapa, herméticamente cerrado, limpio, seco y estéril. Suero fisiológico estéril. Materiales necesarios para la ejecución de la biopsia dependiendo de la localización anatómica.

B.- TÉCNICA: Es de resorte del especialista, en función de la localización anatómica de la misma. Una vez obtenida la muestra se colocará en el recipiente seleccionado y se le agregará 1-2 cm de suero fisiológico, en función del tamaño de la muestra (muestras pequeñas menor cantidad de suero y viceversa, respetando el rango antes mencionado).

C.- NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es suficiente con una muestra de aproximadamente 05-1cm de diámetro. Biopsias de algunas localizaciones como por ej. córnea pueden ser de menor tamaño.

D.-TRANSPORTE: Se enviará inmediatamente al laboratorio, de no ser posible se puede mantener en heladera, hasta 8-12 hs.

E.- OBSERVACIONES: El exceso de suero fisiológico, hace que los tejidos se embeban en dicho líquido, dificultando el procesamiento del material y lectura de las coloraciones. Las muestras sin el agregado de suero pueden desecarse, impidiendo el procesamiento de las mismas. No se deben utilizar medios de transporte para estudio parasitológico.

1.8. Muestras de fluidos biológicos para estudio parasitológico.

En líquidos orgánicos, habitualmente estériles, también se puede buscar la presencia de parásitos. En humor acuoso, LCR, líquido peritoneal, pericárdico, articular etc. El líquido a estudiar estará en función de la parasitosis que se sospeche. Por ejemplo en muestras de humor vítreo se puede investigar la presencia de amebas, en líquido amniótico la presencia de *T.gondii*, entre otros. Sin embargo no son muestras habituales para estudio parasitológico, ya que la mayoría de las parasitosis se diagnostican por el examen de algunas de las muestras ya mencionadas o mediante estudios inmunológicos.

La realización de dicho examen siempre debe coordinarse con el laboratorio de parasitología.

A.- MATERIAL NECESARIO: Frasco o tubo, de plástico o vidrio, con tapa, herméticamente cerrado, limpio, seco y estéril.

C.- TÉCNICA: Variará dependiendo del líquido corporal de que se trate, pero siempre se seguirá una técnica rigurosa de asepsia de la zona a puncionar. La muestra se obtiene por punción y se coloca en el recipiente seleccionado.

D.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: 5-8 ml de líquido.

E.-TRANSPORTE: Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio, se pueden mantener en heladera 2-4 hs.

F.- MUESTRAS INADECUADAS: No son adecuadas las muestras de líquidos en medios de transportes, ni muestras de líquidos en hisopos.

1.9. Muestras para cultivo parasitológico.

Existen medios de cultivos diferenciales para algunas parasitosis. Esta metodología diagnóstica no se realiza de rutina en los laboratorios de diagnóstico, sino que se utilizan sobre todo en laboratorios de investigación. Se mencionan aquí dado que algunos de ellos están disponibles en nuestro medio y son de ayuda diagnóstica en algunas situaciones clínicas en particular.

A modo de ejemplo se citan: medios como el NNN o LIT para el cultivo de *T.cruzi*, cultivos celulares para *T.gondii*, cultivo celulares para *G.lambliia*; etc.

La muestra a enviar dependerá de la parasitosis y de la localización anatómica de la misma (sangre, líquido amniótico, humor acuoso, biopsias, etc.).

La obtención, el transporte y conservación de estas muestras deberá coordinarse previamente con el laboratorio parasitológico que realice los cultivos, ya que las condiciones de la muestra dependen del tipo de cultivo con el que se trabaje.

1.10. Muestras para trepoinvestigación.

Esta técnica se utiliza en el diagnóstico de sífilis primaria o sífilis secundaria. Básicamente consiste en recolectar secreciones a partir de la lesión (chancro sifilítico, placas mucosas, sifilides, etc.), mediante raspado con hoja de bisturí; el material se coloca entre lámina y laminilla y se observa inmediatamente en microscopio de campo oscuro; el diagnóstico se establece por la morfología y movilidad característica de *Treponema pallidum*.

Por las características propias de la técnica esta muestra se debe obtener en el laboratorio de Microbiología, ya que no es posible transportar la misma porque los espiroquetas se mueren rápidamente.

2. MUESTRAS PARA ESTUDIO INMUNOLÓGICO DE PARASITOSIS

La detección de anticuerpos circulantes, es una metodología de diagnóstico habitual en las afecciones parasitarias, fundamentalmente en las parasitosis hemotesiduales. La muestra a estudiar para la mayoría de ellas es suero.

De acuerdo a las características clínicas, antecedentes epidemiológicos, etc. Se solicitará la serología que se considere pertinente; por ejemplo: serología para toxoplasmosis, serología para enfermedad de Chagas, serología para toxocariasis, etc

A.- MATERIAL NECESARIO: Tubo de vidrio o plástico, con tapa de rosca hermético, limpio y seco.

B.- TÉCNICA: Luego de realizar asepsia de la piel, se extrae sangre por venopunción.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: 5-10ml.

D.-TRANSPORTE: Se enviará inmediatamente al laboratorio.

Para algunas parasitosis también se pueden detectar antígeno circulante en suero, LCR u otros fluidos biológicos. En estos casos se debe coordinar previamente con el laboratorio de parasitología, tanto para obtención de la muestra como para transporte y conservación.

V MUESTRAS MICOLÓGICAS

La eficacia con la que se realice un diagnóstico micológico correcto está vinculado al grado de perfección con el que se conjuguen algunas de las siguientes premisas.

El primer lugar, es el médico clínico (médico general, internista, infectólogo, hematólogo, dermatólogo entre otros especialistas) quien sospecha la presencia de una micosis, por lo cual debe conocer los síntomas y signos de la misma, para solicitar al laboratorio la realización de los estudios micológicos pertinentes.

Si el médico no establece un diagnóstico presuntivo de una micosis, o no logra obtener muestras adecuadas en cantidad y calidad, o remite las muestras en contenedores inapropiados, o con el agregado de medios de transporte o sustancias químicas no específicas para un estudio micológico, o envía la muestra horas/días después de su obtención; el resultado de ello será la pérdida de la muestra o un falso negativo.

Por otro lado el rol del micólogo va a ser decisivo en el diagnóstico, dado que si éste deja de realizar la observación directa de las muestras (con fresco y coloraciones), o no selecciona para el cultivo los medios apropiados para el aislamiento de ciertas especies de hongos, sea por omisión o por no haber sido informado de la impresión clínica del médico solicitante, la posibilidad de establecer un diagnóstico final correcto puede perderse o quedar gravemente comprometida.

La micosis planteada, así como el estudio micológico y la selección de la muestra a examinar, estará guiada por la forma de presentación clínica.

Clásicamente según su localización anatómica, las micosis se pueden dividir en: superficiales, dermohipodérmicas, profundas localizadas y sistémicas. Según el grado de patogenicidad del hongo se pueden dividir en: micosis causadas por agentes oportunistas, por patógenos primarios con comportamiento oportunista o por patógenos primarios.

Actualmente no debe olvidarse que hongos que no se consideraban patógenos o se encontraban limitado a un solo órgano pueden causar enfermedad diseminada en el inmunodeprimido. En este contexto se debe tener en cuenta que el aislamiento de algunos hongos en piel, mucosas u otros sectores, puede no significar una afección localizada, sino que por el contrario ser la manifestación de una micosis sistémica diseminada.

Conceptos generales.

- Las muestras deben estar acompañadas de su respectiva solicitud, en la que deben constar todos los datos solicitados por el laboratorio y los que el médico considere relevante para el estudio.
- El tipo de muestra recogida dependerá de la micosis sospechada y de su localización anatómica.
- Los tubos, viales, frascos (vidrio o plástico) donde se recolecten las muestras deben ser estériles y con tapón hermético y correctamente identificadas (ver conceptos generales en muestras parasitológicas).

Tipos de muestras mas usuales.

Las muestras en las que se realiza estudio micológico con mayor frecuencia son:

- Escamas de piel.
- Uñas.
- Pelos.
- Exudados de lesiones mucosas.
- Exudados de heridas, nódulos subcutáneos, absceso subcutáneos, entre otros.
- Hemocultivos
- Lavado bronquioloalveolar.
- Expectorcación.
- LCR y otros fluídos biológicos.
- Biopsias de órganos.
- Secreciones vaginales .
- Córnea.

3. MUESTRAS PARA ESTUDIO MICOLÓGICO.

3.1. Muestras para estudio de micosis superficiales.

Este examen se solicita habitualmente para el diagnóstico de micosis superficiales tales como: dermatofitosis, candidiasis, pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica, entre otras.

Las dermatofitosis corresponden al parasitismo de la piel y sus anexos causada por un grupo de hongos queratinofílicos y queratinolíticos denominados dermatofitos.

Las candidiasis superficiales corresponden a las afecciones de piel y mucosas causadas por especies de levaduras del género *Candida*.

La pitiriasis versicolor es una afección de la piel causada por levaduras del género *Malassezia* (clásicamente *Malassezia furfur*), que se caracteriza por la aparición de máculas hipopigmentadas con descamación furfurácea en dicho sector.

Es ideal que la toma de muestra para este estudio se realice en el laboratorio, siendo el especialista (Parasitólogo o especialista en Laboratorio Clínico) quien selecciona la zona mas representativa de la afección para realizar la toma.

3.1.1. Escamas de piel

A.- MATERIAL NECESARIO: Cajas de Petri estéril, hoja de bisturí.

B.- TÉCNICA: Se realizará intenso raspado de la piel, con hoja de bisturí en la zona afectada.

En lesiones topografiadas en piel glabra (cara, cuello, brazos, piernas, pies, entre otros); se seleccionará preferentemente, las zonas en la que se observen bordes sobreelevados,

eritematosos y descamantes, o en la periferia de las lesiones y en aquellos casos en los que presenten ampollas se seccionará el techo de la misma.

Las escamas de piel recolectadas, se colocarán en cajas de Petri estériles.

- C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Es recomendable la recolección de material suficiente para la realización de láminas para examen directo y para un mínimo de 2 tubos de cultivo.
- D.- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN:** Si la toma de la muestra no se realiza en el laboratorio, debe enviarse dentro de las 24 horas, manteniéndose a temperatura ambiente.
- E.- OBSERVACIONES:** Se deberá tener en cuenta que la sensibilidad del estudio micológico está directamente relacionado con la cantidad de material obtenido; por lo cual la muestra a estudiar debe ser abundante.

3.1.2. Uñas

- A.- MATERIAL NECESARIO:** Cajas de Petri estéril, bisturí de punta fina, pipetas Pasteur estériles, suero fisiológico, gasa, alcohol.
- B.- TÉCNICA:** La toma de material se realizará colocando la punta del bisturí por debajo de la lámina ungueal y raspando firmemente; tratando de llegar al límite entre la zona sana y la afectada visualizado clínicamente.
En los casos en los que el despigamiento de la lámina ungueal sea incipiente, se colocará unas gotas de suero fisiológico con pipeta Pasteur por debajo de la uña con el fin de macerar dicha zona para luego de 5-10 minutos recolectar la muestra.
En las onixis en las que predomine la afectación de la lámina externa de la uña, se obtendrá la muestra mediante raspado intenso de dicha zona.
- C.- NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Las mismas consideraciones que en el ítem 3.11.
- D.- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN:** Si la toma de la muestra no se realiza en el laboratorio, debe enviarse dentro de las 24 horas, manteniéndose a temperatura ambiente.
- E.- OBSERVACIONES:** En el caso de lesiones de uñas de pies, se puede realizar limpieza de la zona con una gasa estéril mojada en alcohol blanco (no alcohol yodado), y realizar la toma luego del secado completo de la zona.

3.1.3. Cuero cabelludo

- A.- MATERIAL NECESARIO:** Cajas de Petri estéril, hojas de bisturí estéril y pinzas sin dientes, estériles.

- B.- TÉCNICA:** Para realizar la toma de material en las tiñas de cuero cabelludo, se recolectarán escamas de la zona alopecica, mediante raspado intenso con hoja de bisturí; luego se observarán los pelos que estén clínicamente afectados y se extraerán los mismos utilizando las pinzas. En los casos en los que se observen exudados purulentos, se realizará la recolección del mismo con ansa bacteriológica y se colocará en una lámina de vidrio limpia, extendiendo suavemente el material evitando los acúmulos; luego se recolectará material con jeringa estéril si es abundante o con hisopo estéril, sin medio de transporte.
- C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Las mismas consideraciones que en el item anterior.
- D.- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN:** Si la toma de la muestra no se realiza en el laboratorio, debe enviarse dentro de las 24 horas, manteniéndose a temperatura ambiente.

3.1.4. Lesiones mucosas

- A.- MATERIAL NECESARIO:** Láminas de vidrio limpias, hoja de bisturí, hisopo estéril, ansa bacteriológica (descartable o tradicional), suero fisiológico.
- B.- TÉCNICA:** Se realizará raspado de la zona afectada con hoja de bisturí, el material así obtenido se colocará sobre la lámina de vidrio y se extenderá suavemente con movimientos concéntricos, se repetirá el procedimiento hasta realizar unas 3-4 láminas promedio, éstas se destinarán para coloraciones; si el material es abundante se colocará entre lámina y laminilla para observación en fresco, si es escaso se puede agregar una gota de suero fisiológico para la realización del mismo. Por último se raspará enérgicamente con ansa bacteriológica estéril y se cultivará en los medios adecuados.
En el caso de que la toma se realice fuera del laboratorio, o que no se cuente con alguno de los materiales antes mencionados (medios de cultivos, ansas bacteriológicas, laminillas); se procederá de igual forma para la obtención de láminas para coloraciones y luego se tomarán 2 hisopos estériles humedecidos con suero fisiológico estéril, se pasará 2- 3 veces por la lesión; uno de ellos se destinará para cultivos y el otro para el examen en fresco.
- C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Es recomendable la realización de varias láminas para aumentar las posibilidades diagnósticas.
- D.- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN:** Si la toma de la muestra no se realiza en el laboratorio, debe enviarse dentro de las 2-4 horas siguientes, manteniéndose la muestra refrigerada a 4°C en este lapso de tiempo.
- E.- OBSERVACIONES:** La desecación de los hisopos impide el procesamiento de la muestra.

3.1.5. Heridas de piel.

- A.- MATERIAL NECESARIO:** Láminas de vidrio limpias, hoja de bisturí, hisopo estéril, ansa bacteriológica (descartable o tradicional), suero fisiológico, jeringa estéril.

- B.- TÉCNICA:** Si las lesiones presentan secreciones abundantes, se puede realizar aspirado con jeringa estéril y enviar rápidamente al laboratorio (1-2 hs). De lo contrario se tomarán muestras raspando con hoja de bisturí preferentemente en los bordes de la lesión para la realización de frotis para examen directo (ver técnica en ítem. 3.1.4) y se tomarán muestras con hisopos para los cultivos.
- C.- NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Es recomendable la realización de varias láminas y 2-3 hisopos.
- D.- TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN:** Si la toma de la muestra no se realiza en el laboratorio, debe enviarse dentro de las 2-4 horas siguientes, manteniéndose la muestra refrigerada a 4°C en este lapso de tiempo.
- E.- OBSERVACIONES:** ver observaciones de ítems. 3.1.1 y 3.1.4.

3.1.6. Secreciones vaginales.

Se utiliza para el diagnóstico de candidiasis vaginal. Ya se mencionó previamente que la muestra de exudado vaginal para estudio micológico, parasitológico y bacteriológico se realiza en el laboratorio, tomándose muestras para el estudio de los diferentes agentes etiológicos involucrados.

- A.- PREPARACIÓN DEL PACIENTE:** ver exudado vaginal para estudio parasitológico (ítem. 1.5).
- B.- MATERIAL NECESARIO:** ver exudado vaginal para estudio parasitológico (ítem. 1.5).
- C.- TÉCNICA:** Con la paciente en posición ginecológica, se introducirá el espéculo, se utilizará agua templada para lubricar si es necesario (no usar antisépticos u otros lubricantes).
Se recogerá la muestra aspirando con la pipeta, de la zona de mayor exudado o del fondo de saco vaginal posterior. Se colocará la totalidad del exudado aspirado en el tubo con 1 ml suero fisiológico.
Si se observan lesiones en región vulvar se realizará raspado suave con hoja de bisturí, y se extenderá en una lámina con movimientos circulares, además se tomará con ansa bacteriológica una muestra de la zona afectada y se colocará en un tubo con 1 ml de suero fisiológico estéril.
- D.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Es suficiente con 1- 2 láminas para examen micológico directo y 0.5-1ml de exudado para examen micológico en fresco y cultivos.
- E.-TRANSPORTE:** Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento, o mantenerse refrigerada a 4°C no mas de 1- 2 hs.

F.- MUESTRAS INADECUADAS: No son adecuadas las muestras de exudados en medios de transporte.

E.- OBSERVACIONES: Si las muestras no se procesaran inmediatamente, se debe tomar por separado una toma para búsqueda de *Trichomonas vaginales* y una toma para búsqueda de hongos, ya que la conservación de las mismas difiere, requiriendo conservación en estufa o heladera respectivamente.

3.1.7. Secreciones balano- prepuciales.

A.- PREPARACIÓN DEL PACIENTE: ver exudado vaginal para estudio parasitológico (item. 1.5).

B.- MATERIAL NECESARIO: Hoja de bisturí estéril, hisopo estéril, suero fisiológico, láminas, ansa bacteriológica.

C.- TÉCNICA: Se realizará raspado suave con hoja de bisturí, y se extenderá en una lámina con movimientos circulares en las zonas donde se observen lesiones. Con ansa bacteriológica estéril se tomará una muestra de la zona afectada mediante raspado intenso, se colocará en un tubo con 1 ml de suero fisiológico estéril. Si las lesiones son exudativas se tomará también una muestra con hisopo estéril.

D.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es suficiente con 1- 2 láminas para examen micológico directo y 0.5-1ml de exudado para examen micológico en fresco y cultivos.

E.-TRANSPORTE: Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento, o mantenerse refrigerada a 4°C no mas de 1- 2 hs.

F.- MUESTRAS INADECUADAS: No son adecuadas las muestras de exudados en medios de transporte.

3.1.8. Lesiones corneales.

Las lesiones traumáticas a nivel de córnea son relativamente frecuentes, en estas situaciones las queratitis micóticas adquieren relevancia y por ende su diagnóstico correcto y oportuno, teniendo en cuenta que la evolución de las mismas es rápidamente progresiva con compromiso de estructuras profundas. Los agentes involucrados son levaduras y mohos muchos de los cuales son contaminantes ambientales (por ej. *Aspergillus*, *Fusarium*, *Candida*, *Dematiáceas*, entre otros).

Es ideal que la toma se realice en el laboratorio, la muestra la recolectará el oftalmólogo y el especialista de Laboratorio realizará los frotis y cultivos en el momento.

A.- MATERIAL NECESARIO: ansas bacteriológicas descartables, láminas (portaobjetos), mechero bunsen, medios de cultivos.

- B.- TÉCNICA:** Se visualizará la lesión corneal con una buena iluminación, y se raspará con el ansa bacteriológica preferentemente sobre los bordes de la úlcera, se extenderá el material en las láminas. Se procederá de la misma forma para realizar los cultivos, los que se sembrarán al lado del mechero. Para la obtención de cada una de las muestras se utilizará un ansa que se descartará.
- C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Se requieren como mínimo 2 láminas para examen micológico directo y deben realizarse un mínimo de 3 cultivos en Sabouraud-Cloramfenicol.
- F.- MUESTRAS INADECUADAS:** No son adecuadas las muestras que se realizan con antibioticoterapia o antimicóticos previos y tampoco si se utilizaron colirios anestésicos, ya que pueden inhibir el desarrollo del hongo.

3.1.9. Conducto auditivo externo.

Está indicado para la búsqueda de otitis externa de etiología micótica, los mohos del género *Aspergillus* son los involucrados frecuentemente en esta entidad.

- A.- MATERIAL NECESARIO:** ansas bacteriológicas descartables, láminas (portaobjetos), hisopos estériles, suero fisiológico estéril.
- B.- TÉCNICA:** Se visualiza con otoscopio el conducto auditivo externo y se realizan las tomas con ansa bacteriológica mediante raspado intenso de la zona afectada, se coloca el material obtenido en láminas (portaobjetos) y se recolecta material con hisopo en forma estéril para los cultivos.
- C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Se requieren como mínimo 2 láminas para examen micológico directo y 2 hisopos para cultivos.
- F.- OBSERVACIONES:** Si las secreciones son escasas o las lesiones se caracterizan por ser eczematoasas y secas, debe embeberse previamente el hisopo en suero fisiológico estéril.

3.2. Muestras para estudio de micosis dermohipodérmicas.

En este grupo de micosis se encuentran esporotricosis, cromomicosis, feohifomicosis, entre otras.

Las lesiones por este grupo de micosis se caracterizan por su pleomorfismo en la presentación clínica; se pueden observar nódulos de tamaño pequeño o grandes, únicos o múltiples, que se

adhieren a la piel supraadyacente, con presencia o ausencia de ulceración de piel, que deforman la región, entre otras características.

Dependiendo de las características clínicas de la lesión, es como se seleccionará la muestra a estudiar.

Para el estudio de este grupo de micosis es fundamental que la muestra se tome en el laboratorio por el especialista y la mayoría de las veces para establecer un diagnóstico certero es necesario tomar más de una muestra.

La muestra se podrá obtener por compresión intensa de bordes laterales de la lesión, sobre todo en aquellas lesiones nodulares con pequeñas ulceraciones; o por punción con aguja y jeringa de los nódulos subcutáneos, o por escarificación de la piel y compresión de la zona, o por raspado del subcutáneo, etc.

Es fundamental para el diagnóstico de estas micosis la obtención de muestras representativas (en calidad y cantidad).

3.3. Muestras para estudio de micosis profundas.

En este grupo se encuentran gran cantidad de agentes micóticos que son capaces de causar enfermedad profunda localizada o sistémica.

Las muestras a estudiar son diversas dependiendo de la localización de la micosis.

Si se sospecha una micosis profunda es importante que el médico examine cuidadosamente piel y mucosas ya que alguna de estas micosis en su diseminación afectan este sector del organismo, siendo piel y mucosas una zona de fácil acceso que puede establecer un diagnóstico precoz, evitando la obtención de muestras por técnicas invasivas y lo más importante permitiendo establecer un tratamiento específico en forma inmediata.

En todo paciente en quien se establezca un diagnóstico presuntivo de micosis profunda sistémica debe estudiarse más de una muestra. Por ejemplo si se obtiene LCR de un paciente que se sospecha una micosis, se debe enviar muestras de esputo y sangre. No es excepcional el hallazgo de *Cryptococcus neoformans* en sangre, con examen directo y cultivos negativos para LCR.

Además siempre debe interrogarse acerca de viajes a regiones endémicas para despistar micosis exóticas para nuestro medio, como por ej: coccidiodomicomicosis.

En pacientes inmunodeprimidos pueden presentarse diversas infecciones micóticas oportunistas y emergentes de localización profunda; las diferentes especies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Zygomycetos*, levaduras del género *Candida* y hongos del grupo de las *Dematiáceas* (hongos de pared color marrón-negro), entre otros, así como bacterias filamentosas integrantes del grupo de los *Actinomycetales*; se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, encontrándose como microorganismos ambientales de la flora anemófila, o como flora normal de piel y mucosas. Por tanto para poder interpretar el rol de estos agentes micóticos es fundamental que se seleccionen las muestras a estudiar en forma apropiada y que se tomen en las condiciones adecuadas; no debiéndose olvidar que en estas situaciones es muy importante el encare en conjunto del médico clínico con el especialista de laboratorio.

Los médicos debemos permanecer alerta a cerca de las afecciones fúngicas oportunistas en cualquier paciente con alteración de la respuesta inmune; en estos pacientes los síntomas y signos habituales pueden quedar enmascarados por lo cual puede estar indicado el estudio de

secreciones, de lesiones de piel, etc., incluso en ausencia de signos característicos de infección micótica.

3.3.1. Muestras del tracto respiratorio inferior.

3.3.1.1. Expectoración.

Se emplea sobre todo para el estudio de las siguientes micosis: histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, aspergilosis pulmonar, criptococosis. Tiene como desventaja que el aislamiento de hongos a partir de esta muestra o la visualización de los mismos en el examen micológico directo tiene una baja sensibilidad dependiendo del hongo en cuestión.

Sin embargo es una muestra de fácil recolección, que si se obtiene correctamente puede establecer el diagnóstico de algunas de las micosis antes mencionadas. De forma tal que es correcto solicitar una muestra de expectoración para estudio micológico, antes de poner en práctica técnicas invasivas para la obtención de secreciones; pero teniendo siempre como premisa que un resultado negativo no invalida el diagnóstico y por tanto se debe seguir el algoritmo diagnóstico con el estudio de otras muestras.

- A. - MATERIAL NECESARIO:** Recipiente de boca ancha, con tapa de rosca, de cierre hermético, estéril.
- B.- TÉCNICA:** Se indicará al paciente realizar higiene bucal con cepillado de dientes, en forma habitual al levantarse, luego enjuagarse la boca con agua destilada o suero fisiológico y expectorar dentro del frasco. Se explicará al paciente que el frasco se destapará solo en el momento de colocar la expectoración en su interior y se cerrará rápidamente.
- D.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Es suficiente con 2-5 ml de secreciones.
- E.-TRANSPORTE:** Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento, o mantenerse refrigerada a 4°C no mas de 4 - 6 hs.
- F.- MUESTRAS INADECUADAS:** muestras que no han sido refrigeradas para su traslado o conservación antes el envío al laboratorio. Muestras que contengan saliva mayoritariamente.
- E.- OBSERVACIONES:** En casos de expectoración escasa se puede inducir el esputo realizando nebulizaciones con 5-10 ml de suero fisiológico.

3.3.1.2. Lavado bronquioloalveolar.

Se emplea habitualmente para el estudio de las siguientes micosis: neumocistosis, histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, aspergilosis pulmonar, criptococosis.

Es la técnica de elección para el diagnóstico de neumocistosis, no siendo muestras representativas las de expectoración o esputo inducido.

A.- MATERIAL NECESARIO: Fibrobroncoscopio, alcohol, suero fisiológico, gasa y algodón estériles, recipiente estéril (de vidrio o plástico).

C.- TÉCNICA: Es de resorte del especialista; existen diferentes técnicas de lavadobronquioloalveolar (ver LBA para muestras bacteriológicas).

D.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es suficiente con 5-10 ml de secreciones.

E.-TRANSPORTE: Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento, o mantenerse refrigerada a 4°C no mas de 4 - 6 hs.

F.- MUESTRAS INADECUADAS: muestras que no han sido refrigeradas para su traslado o conservación antes el envío al laboratorio. Muestras que contengan suero fisiológico mayoritariamente.

3.3.1.3. Biopsia de pulmón.

Se emplea habitualmente para el estudio de las siguientes micosis: neumocistosis histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, criptococosis, aspergilosis pulmonar y candidiasis pulmonar.

Esta muestra es la mas representativa para el estudio de micosis en el parénquima pulmonar y en algunos casos la única que permite establecer un diagnóstico certero como por ejemplo en el caso de las candidiasis pulmonares.

Por ser una maniobra invasiva debe reservarse para aquellos casos en los que no se ha establecido un diagnóstico con el estudio de las muestras antes mencionadas.

A.- MATERIAL NECESARIO: El material necesario para la ejecución de la biopsia y para conservación y transporte de la muestra tubo o frasco pequeño de vidrio, estéril de cierre hermético y suero fisiológico estéril.

B.- TÉCNICA: Es de resorte del especialista que la realiza; la misma puede ser transbrónquica con fibrobroncoscopía o a cielo abierto mediante cirugía. La muestra obtenida se colocará en el recipiente en forma estéril y se le agregará 1-2 ml de suero fisiológico estéril.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es suficiente con una pieza de aproximadamente 0,5-1 cm de diámetro.

D.-TRANSPORTE: Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento, o mantenerse refrigerada a 4°C no mas de 4 - 6 hs.

E.- MUESTRAS INADECUADAS: Son inadecuadas aquellas muestras que se envíen al laboratorio y se hayan desecado o no hayan sido manejadas en condiciones correctas de asepsia. No se colocarán en formol u otras sustancias utilizadas habitualmente para estudio histológico.

3.3.2. Muestras de líquidos biológicos.

3.3.2.1. LCR.

Se emplea habitualmente para el diagnóstico de criptocosis, pero también sirve para el estudio de otras micosis que afecten el sistema nervioso central.

A.- MATERIAL NECESARIO: Algodón y gasas estériles, alcohol, yodofón u otro antiséptico, campos estériles, spinocath, tubo o frasco pequeño de vidrio, estéril y de cierre hermético.

B.- TÉCNICA: Es de resorte del especialista (ver descripción en LCR para estudio bacteriológico).

C.- NUMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es suficiente con 1-2 ml de LCR.

D.-TRANSPORTE: Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento, o mantenerse refrigerada a 4°C no mas de 4 - 6 hs.

E.- MUESTRAS INADECUADAS: Muestras que no se han trasladado inmediatamente y han sido mantenidas a temperatura ambiente o en estufa; muestras con medio de transporte.

3.3.2.2. Otros líquidos biológicos: líquido pleural, líquido peritoneal, humor acuoso, líquidos de drenaje, entre otros.

Se emplea habitualmente para el diagnóstico de las micosis sistémicas antes mencionadas, las mismas pueden estar afectando un parénquima o ser diseminadas y el sector que se esté estudiando ser una expresión de dicha diseminación. También sirve para el estudio de otros agentes micóticos emergentes que pueden afectar a pacientes inmunodeprimidos, internados en Unidades de Cuidados Intensivos, entre otros.

A.- MATERIAL NECESARIO: Algodón y gasas estériles, alcohol, yodofón u otro antiséptico, campos estériles, aguja y jeringa para punción (en función del sector anatómico a puncionar), tubo o frasco pequeño de vidrio, estéril y de cierre hermético.

B.- TÉCNICA: Es de resorte del especialista. En el caso de los líquidos de drenaje, la muestra se debe recolectar en forma estéril por punción del tubo de drenaje luego de la desinfección del mismo con alcohol.

- C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Entre 1-5 ml dependiendo del líquido a estudiar, por ej. si es humor acuoso es suficiente con 1 ml, si es líquido de drenaje es deseable 5 ml.
- E.- TRANSPORTE:** Debe trasladarse inmediatamente al laboratorio para su procesamiento o mantenerse refrigerada a 4°C no mas de 4 - 6 hs.
- F.- MUESTRAS INADECUADAS:** Muestras que no se han trasladado inmediatamente y han sido mantenidas a temperatura ambiente o en estufa; muestras con medio de transporte.

3.3.3. Biopsias. Ganglio, hígado, médula ósea, riñón, cornea, piel, etc.

Estas muestras se utilizan fundamentalmente para el estudio de las micosis profundas localizadas o sistémicas.

- A.- MATERIAL NECESARIO:** Frasco o tubo, de plástico o vidrio, con tapa, herméticamente cerrado, limpio y estéril. Suero fisiológico estéril. Materiales necesarios para la ejecución de la biopsia dependiendo de la localización anatómica.
- B.- TÉCNICA:** Es de resorte del especialista, en función de la localización anatómica de la misma. Una vez obtenida la muestra se colocará en el recipiente seleccionado y se le agregará 1-2 cm de suero fisiológico, en función del tamaño de la muestra (muestras pequeñas menor cantidad de suero y viceversa, respetando el rango antes mencionado).
- C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Es suficiente con una muestra de aproximadamente 05-1cm de diámetro. Biopsias de algunas localizaciones como por ej. córnea pueden ser de menor tamaño.
- D.-TRANSPORTE:** Se enviará inmediatamente al laboratorio, de no ser posible se puede mantener en heladera, hasta 4-6 hs.
- E.- OBSERVACIONES:** El exceso de suero fisiológico, hace que los tejidos se embeban en dicho líquido, dificultando el procesamiento del material y lectura de las coloraciones. Las muestras sin el agregado de suero pueden desecarse, impidiendo el procesamiento de las mismas. No se deben utilizar medios de transporte. No se deben conservar a temperatura ambiente o en estufa. No se colocarán en formol u otras sustancias utilizadas habitualmente para estudio anatomopatológico.

3.3.4. Lesiones de piel.

Como se mencionara previamente las lesiones en piel y mucosas pueden ser una manifestación de una micosis sistémica diseminada. En nuestro país esas lesiones son causadas por *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans* y *Paracoccidioides brasiliensis*.

Las lesiones causadas por estas micosis se caracterizan por su pleomorfismo, pueden ser lesiones maculares, maculo-papulares, vesiculosas, costrosas, ulceradas, entre otras. La muestra se tomará mediante escarificación de la lesión en caso de que no esté ulcerada con compresión de los bordes laterales de la misma, realizando improntas por aposición directamente sobre la lesión. En los casos que sean microabscesos se escarificara y se toma el contenido del mismo para las muestras. En las lesiones costrosas se extrae la costra y luego se comprime los bordes de la lesión. Las muestras de mucosa oral se toman por raspado con hoja de bisturí, directamente de la lesión preferentemente de los bordes.

Es fundamental que la muestra de estas lesiones se tomen en el laboratorio por el especialista, donde se realizarán frotis para coloraciones, examen en frescos y cultivos o en su defecto si el paciente está hospitalizado y no puede desplazarse, deberá ser el especialista quien realice la toma para estudio micológico.

3.3.5. Hemocultivo para hongos.

Se emplea para el diagnóstico de las micosis profundas sistémicas antes mencionadas.

La técnica para obtención del hemocultivo es igual que para estudio bacteriológico. Los frascos para realizar el hemocultivo se solicitarán al laboratorio. Se solicitará específicamente “estudio micológico en hemocultivo”, en la boleta de pedido de estudio (ver sector hemocultivos para muestras bacteriológicas).

3.3.6. Mielocultivo para hongos.

Es útil en el estudio de micosis profundas sistémicas.

- A.- MATERIAL NECESARIO:** Jeringa y aguja estéril, algodón, alcohol, yodofón u otro antiséptico, xylocaína, tubo de vidrio o frasco pequeño estéril de cierre hermético.
- B.- TÉCNICA:** Es de resorte del especialista, quien también seleccionará el sitio anatómico de punción (esternón, cresta ilíaca), una vez obtenida la muestra, se descarta la aguja y se coloca el material en el recipiente seleccionado.
- C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN:** Es suficiente con una muestra de aproximadamente 1 ml.
- D.-TRANSPORTE:** Se enviará inmediatamente al laboratorio, de no ser posible se puede mantener en heladera, hasta 2-4 hs.
- E.- OBSERVACIONES:** No se deben utilizar medios de transporte. No se deben conservar a temperatura ambiente o en estufa. No se colocarán en formol u otras sustancias utilizadas habitualmente para estudio anatomopatológico ni se agregará suero fisiológico.

4. MUESTRAS PARA ESTUDIO INMUNOLÓGICO DE MICOSIS PROFUNDAS.

La detección de anticuerpos circulantes para el diagnóstico de micosis profundas es una metodología habitual en el estudio de micosis profundas tales como: aspergilosis, histoplasmosis y paracoccidioidomicosis.

La muestra a estudiar es suero y las técnicas mas frecuentemente utilizadas para la serología de micosis profundas son las de precipitación en agar.

Se debe tener presente que este estudio serológico es útil en el diagnóstico de micosis profundas en pacientes inmunocompetentes, perdiendo valor en pacientes inmunodeprimidos en quienes la serología es negativa; adquiriendo relevancia entonces en este grupo de pacientes el examen micológico tradicional y la detección de antígenos circulantes.

Ver material, técnica, volumen y transporte en muestras para estudio inmunológico de parásitos, ítem. 2.

En algunas micosis adquiere valor la detección de antígeno circulante en LCR, suero u otros fluidos biológicos.

Por frecuencia se menciona la criptococosis, el estudio que se realiza es “detección de antígeno circulante”, la técnica que se utiliza es la aglutinación de partículas de látex y la muestra de elección a estudiar es LCR, dada la mayor sensibilidad y especificidad de la técnica en esta muestra.

A.- MATERIAL NECESARIO: Material necesario para punción lumbar (ver punción lumbar para muestras bacteriológicas), tubo o frasco de vidrio pequeño de vidrio, estéril.

B.- TÉCNICA: Es de resorte del especialista.

C.- NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN: Es suficiente con una muestra de aproximadamente 1 ml de LCR.

D.-TRANSPORTE: Se enviará inmediatamente al laboratorio, de no ser posible se puede mantener en heladera, hasta 2-4 hs.

E.- MUESTRAS INADECUADAS: No son adecuadas muestras con medios de transporte. No se deben conservar a temperatura ambiente o en estufa.

F.- OBSERVACIONES: Está indicada la búsqueda de antígeno circulante de *Cryptococcus neoformans* en LCR, en todo LCR con examen micológico directo con tinta china negativo, en quien se plantee clínicamente la sospecha de criptococosis.

BIBLIOGRAFÍA

2. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. The Role of the Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Infectious Diseases: Guideline to Practice and Management. En: Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philadelphia: JB Lipincott Company, 1997; 2:69-120
3. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH. Specimen Collection, Transport, and Storage. En: Manual of Clinical Microbiology 7th ed. American Society for Microbiology, Washington DC 1999 ,4: 33-63
4. Murray PR. Specimen Collection and Transport. En: ASM Pocket Guide to Clinical Microbiology 1996 Washington, 1996; 3: 40-70
5. Miller JM. Specimen Collection and Processing. En: A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology 1996. American Society for Microbiology, Press Wasington DC1996; 3: 37-115
6. Clinical Microbiology Procedures. Handbook: American Society for Microbiology, Washington DC 1995- Balcell A.
7. Rippon JW. Micología Médica. 3^a Ed. Interamericana. Magraw-Hill, México 1990.
8. Henry JB. Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio. 9^a Ed. Masson-Salvat, Ediciones Científicas y Técnicas, SA. Mexico, 1997.
9. Gilberto AM, Mauricio AR. Interpretación Clínica del Laboratorio. 6^a ed. Ed. Médica Panamericana. LDA, Colombia, 2000.
10. Koneman EW, Roberts GD. Practical Laboratory Mycology, 3rd Ed. Williams and Wilkins. Baltimore. 1985.
11. Mc Ginnis MR. Laboratory Handbook of Medical Mycology. Academic Press New York, 1980.
12. Evans EGV, Richardson MD. Medical Mycology. A practical approach. Published in the Practical Approach Series. IRL Press at Oxford University , 1989.
13. Salvatella R, Eirale C. Examen Coproparasitario. Metodología y empleo. Revisión técnico metodológica. Rev Med Uruguay, 12(3):215-225, 1996.
14. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Parasitología Clínica, 3^a Ed. Salvat Editores SA. Mexico, 1992.
15. Athias A. Parasitología Clínica, 3^a Ed. Publicaciones Técnicas. Mediterráneo Lda. Chile, 1996

AUTORES

Dr. Leonardo Anzalone Cantoni
Profesor Adjunto Departamento de Laboratorio Clínico
Facultad de Medicina
Tel: 6131931
E mail: anzacons@adinet.com.uy

Dra. Cristina Arenas Giménez
Postrgrado de Microbiología
Facultad de Medicina
Tel: 6220302
E. mail: goddone@netgate.com.uy

Dra. Raquel Ballesté Alaníz
Profesor Adjunto Dpto. de Laboratorio Clínico
Profesor Adjunto Dpto. de Parasitología
Facultad de Medicina
Tel: 6825885
Fax: 4873104
E. mail: ballraq@adinet.com.uy

Dra. Cristina Bazet Ugalde
Profesor Agregado Dpto. de Laboratorio Clínico
Facultad de Medicina
Tel: 7071743
Fax: 4878701
E. mail: bazet@internet.com.uy

Dr. Julio Blanco Toloza
Profesor Adjunto Dpto. de Laboratorio Clínico
Facultad de Medicina
Tel/Fax: 9006661
E. mail: jblanco@movinet.com.uy

Dra. Marcela Legnani Cardoso
Asistente del Dpto. de Laboratorio Clínico
Facultad de Medicina
Tel: 03346034
E. mail: mlegnani@adinet.com.uy

Dra. Grisel Rodríguez Cuns
Asistente del Dpto. de Laboratorio Clínico
Profesor Adjunto de Dpto. de Bacteriología y Virología
Facultad de Medicina
Tel: 2043069
E. mail: griselrc@adinet.com.uy

Dr. Roberto Salvatella Agrelo
Profesor Adjunto Dpto. de Laboratorio Clínico
Profesor Agregado Dpto. de Parasitología
Consultor OPS/OMS
Tel: 7073589/90/81
Fax: 7073530
E.mail: salvater@uru.ops-oms.org

Dra. Verónica Seija Scarone
Asistente del Dpto. de Laboratorio Clínico
Profesor Adjunto de Dpto. de Bacteriología y Virología
Facultad de Medicina
Tel: 6966780
E. mail: seinall@hotmail.com.uy