

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: **Emilia Cercenado y Rafael Cantón**

1 a.

Recogida, transporte y
procesamiento general de
las muestras en el laboratorio
de microbiología

2 0 0 3

Coordinador: Carlos Sánchez Carrillo

Autores: Carmen Guerrero Gómez

Carlos Sánchez Carrillo



ISBN: 84-609-2287-1

INDICE

INDICE DEL DOCUMENTO CIENTIFICO

1. Introducción
2. Consideraciones clínicas
3. Recogida y transporte de las muestras
4. Toma de muestras
5. Recepción y procesamiento de las muestras en el laboratorio de microbiología

INDICE DEL DOCUMENTO TÉCNICO

1. PROPÓSITO Y ALCANCE
2. FUNDAMENTO
3. DOCUMENTOS DE CONSULTA
4. MUESTRAS
 - 4.1. Criterios de aceptación y rechazo de las muestras/toma de decisiones
 - 4.2. Mantenimiento de muestras tras el procesamiento
 - 4.3. Transporte de muestras por superficie y por vía aérea
 - 4.3.1. Transporte internacional aéreo
 - 4.3.2. Transporte nacional y local por superficie
5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS
6. APARATOS Y MATERIAL
7. PROCESAMIENTO
 - 7.1. Recepción de la muestra
 - 7.2. Procesamiento de la muestra
 - 7.2.1. Pretratamiento de la muestra
 - 7.2.1.1. Centrifugación
 - 7.2.1.2. Homogeneización
 - 7.2.1.2.1. Mediante hoja de bisturí
 - 7.2.1.2.2. Mediante mortero
 - 7.2.1.2.3. Mediante Stomacher
 - 7.2.2. Preparación de extensiones
 - 7.2.2.1. Mediante impronta: piezas de tejido
 - 7.2.2.2. Extensiones finas: material muy purulento
 - 7.2.2.3. Líquidos
 - 7.2.2.4. Muestras en torunda
 - 7.2.3. Inoculación de la muestra en los medios de cultivo
 - 7.2.3.1. Piezas no triturables
 - 7.2.3.2. Muestras recibidas en jeringas o tubos estériles
 - 7.2.3.3. Muestras recibidas en torundas
 - 7.2.3.4. Técnica de Maki para cultivo de catéteres intravasculares
 - 7.2.3.5. Cultivos semicuantitativos
 - 7.2.3.6. Cultivos cuantitativos
 - 7.2.4. Incubación
 - 7.2.4.1. Temperatura
 - 7.2.4.2. Atmósferas de incubación
8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS
9. RESPONSABILIDADES
10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO
11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
12. BIBLIOGRAFÍA

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

1a. RECOGIDA, TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO GENERAL DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA 2003

Coordinador: Carlos Sánchez Carrillo

**Autores: Carmen Guerrero Gómez
Carlos Sánchez Carrillo**

1. INTRODUCCIÓN

La actividad que desarrolla el laboratorio de microbiología está orientada esencialmente al diagnóstico microbiológico de las enfermedades infecciosas. Una parte importante de esa actividad consiste en el aislamiento, la identificación y la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos de los microorganismos causales de estas enfermedades. Otra parte importante de la actividad de un laboratorio de microbiología consiste en la detección de anticuerpos, antígenos y ácidos nucleicos en diversas muestras (sangre, líquidos estériles, orina, etc.), técnicas que resultan muy útiles en el diagnóstico precoz de determinadas enfermedades infecciosas. La gran diversidad de muestras clínicas y de métodos diagnósticos aplicables, son dos aspectos que diferencian el laboratorio de microbiología de otros laboratorios clínicos.

Este documento pretende exponer de forma resumida los aspectos referentes a la recogida, transporte y procesamiento de las muestras que son relevantes para que la actividad del laboratorio de microbiología se desarrolle de manera eficaz y eficiente. Los aspectos relacionados con las pruebas rápidas de detección de anticuerpos, antígenos y ácidos nucleicos no se describen en el presente procedimiento y serán desarrollados en otros posteriores.

2. CONSIDERACIONES CLÍNICAS

El primer paso del diagnóstico microbiológico comienza con la obtención de la muestra clínica adecuada. Para ello es preciso conocer los posibles agentes etiológicos de las enfermedades infecciosas y los mecanismos patogénicos de los mismos. La muestra debe ser representativa del proceso infeccioso que se pretende diagnosticar, teniendo siempre en cuenta que en determinadas infecciones, muestras no relacionadas directamente con la focalidad clínica pueden tener también un buen rendimiento microbiológico. El síndrome clínico y los posibles agentes etiológicos implicados condicionan no sólo el tipo de muestra a enviar sino también su procedimiento de obtención y el transporte al laboratorio. En la **tabla 1** se resumen los distintos tipos de muestras adecuadas en función de las infecciones más comunes. Igualmente, la información clínica es la que permite al laboratorio aplicar las técnicas diagnósticas disponibles de manera más eficiente. Por ello es fundamental que el microbiólogo esté en estrecha comunicación con los clínicos y que participe activamente en el proceso diagnóstico del paciente. A su vez, el laboratorio de microbiología debe poner a disposición de los clínicos toda la información necesaria sobre las posibilidades diagnósticas que el laboratorio ofrece. Para ello, debe elaborar y distribuir la cartera de servicios disponible.

3. RECOGIDA Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Toda la información diagnóstica que puede generar el laboratorio de microbiología depende en gran medida de la muestra enviada. Esta no sólo tiene que ser la adecuada, sino que además debe cumplir unos requisitos que aseguren su idoneidad y en consecuencia la calidad de nuestro trabajo. La idoneidad de las muestras enviadas depende del cumplimiento de una serie de medidas o reglas referentes a: procedimiento de obtención, cantidad enviada y transporte rápido y adecuado al laboratorio. Todas las normas y recomendaciones sobre estos aspectos se encuentran detalladas en el documento técnico. Las consecuencias de una muestra mal tomada y/o mal enviada pueden suponer un fracaso en el aislamiento del agente etiológico o el aislamiento de posibles microorganismos contaminantes que pueden generar tratamientos innecesarios o inadecuados. Para asegurar la idoneidad de las muestras que recibe, el laboratorio de microbiología debe elaborar un manual claro y conciso de las normas de recogida y transporte de las mismas. Dicho manual debe distribuirse en controles de enfermería, consultas y demás dependencias hospitalarias y ambulatorias en las que se asista a los pacientes.

4. TOMA DE MUESTRAS

La explicación detallada de la toma de cada muestra para el diagnóstico microbiológico se puede encontrar en cada procedimiento concreto de la SEIMC. En estos se detallará la preparación previa del paciente, la muestra de elección, las alternativas aceptables, su cantidad, los recipientes adecuados y la conservación de la muestra así como su estabilidad.

5. RECEPCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Una vez que la muestra se recibe en el laboratorio de microbiología, el manejo de la misma incluye:

1. Recepción de la muestra: consiste básicamente en determinar si la muestra cumple o no los requisitos de calidad necesarios para ser procesada. Estos requisitos incluyen: la correcta identificación de la muestra, la valoración sobre si existe una cantidad adecuada para el estudio solicitado y la comprobación de las condiciones adecuadas de transporte y conservación. Cada laboratorio debe elaborar y distribuir los criterios de aceptación y rechazo de las muestras.

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

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

2. Procesamiento: consiste en la preparación de las muestras, la realización de tinciones y la inoculación en los medios de cultivo para su posterior incubación. En este proceso es preciso considerar: a) el tipo de muestra enviada, b) el diagnóstico clínico del paciente y c) la petición solicitada.

El tipo de muestra enviada determina si requiere o no pretratamiento (centrifugación, homogeneización) previo a la inoculación de los medios de cultivo.

La información clínica del paciente es fundamental para la selección de los medios de cultivo a inocular y su posterior incubación.

De modo general, en función del tipo de muestra, el laboratorio utiliza unos medios de cultivo primarios que permiten el aislamiento de la mayoría de los agentes etiológicos más frecuentes de los distintos procesos infecciosos. Sin embargo, en ocasiones el síndrome clínico puede estar causado por microorganismos poco frecuentes cuyo aislamiento requiere el uso de medios de cultivo específicos y/o selectivos no habituales. La sospecha de la participación de alguno de estos microorganismos poco habituales, debe comunicarse al laboratorio. Igualmente, el laboratorio debe dar a conocer a los clínicos de su institución qué microorganismos investiga rutinariamente y cuáles debe especificar en la petición (cartera de servicios o catálogo de pruebas).

Aunque el aislamiento por cultivo, continúa siendo una de las técnicas más frecuentemente empleadas en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, existen en la actualidad otras técnicas cuya principal ventaja sobre el cultivo es la rapidez diagnóstica. Estas técnicas de diagnóstico rápido se basan en la detección de antígenos y de ácidos nucleicos o en la detección de la respuesta inmunológica. Si bien la detección de ácidos nucleicos no está al alcance de todos los laboratorios, las técnicas de detección de antígenos no requieren tecnología ni equipos especiales y son fáciles de realizar. Las técnicas más utilizadas son la inmunofluorescencia directa, la aglutinación con partículas de látex, el ensayo de inmunoenzimas y la inmunocromatografía. Otras técnicas de diagnóstico rápido basadas en la detección de la respuesta inmunológica (anticuerpos principalmente) han demostrado ser muy útiles en el diagnóstico de determinadas enfermedades infecciosas. Las técnicas más utilizadas son el *Rosa de Bengala* (para el diagnóstico de la brucelosis) y la detección de anticuerpos heterófilos (para el diagnóstico de la mononucleosis infecciosa), el RPR (para el diagnóstico de la sífilis), y la detección rápida presuntiva de infección por el VIH. En la actualidad existen múltiples equipos comercializados para la detección de numerosos microorganismos en determinadas muestras clínicas (ver **tabla 2**) que han demostrado utilidad.

Tabla 2.- Microorganismos con técnica rápida disponible para su detección en muestras clínicas

Microorganismos	Muestras	Técnicas disponibles
Bacterias		
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b	LCR ^a	Aglutinación
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	LCR, orina, muestras respiratorias	Aglutinación (LCR), IC ^b (orina)
<i>Neisseria meningitidis</i>	LCR	Aglutinación
<i>Legionella pneumophila</i>	Muestras respiratorias, orina	IFD ^c (respiratorias), IC, EIA ^d (orina)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Exudado faríngeo, lesiones cutáneas, líquidos estériles	IC
<i>Brucella</i> spp.	Sangre	Aglutinación
<i>Clostridium difficile</i>	Heces	Aglutinación, EIA
Hongos		
<i>Aspergillus</i> spp.	Suero	Inmunodifusión, EIA
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Suero	Inmunodifusión, EIA
<i>Pneumocystis jiroveci</i>	Muestras respiratorias	IFD
Virus		
Rotavirus	Heces	IC, Aglutinación
Adenovirus	Heces, muestras respiratorias	IC (heces, respiratorias), Aglutinación (heces), IFD (respiratorias)
Virus respiratorio sincitial	Muestras respiratorias	IC, IFD
Virus influenza	Muestras respiratorias	IC, IFD
Virus parainfluenza	Muestras respiratorias	IFD
Virus de la inmunodeficiencia humana	Sangre	IC, EIA
Virus herpes simplex	Lesiones cutáneas	IFD
Virus varicella zoster	Lesiones cutáneas/muestras respiratorias	IFD
Citomegalovirus	Sangre/muestras respiratorias/orina	IFD
Virus Epstein Barr	Sangre	Aglutinación
Parásitos		
<i>Cryptosporidium</i>	Heces	Tinción de ácido-alcohol resistencia
<i>Plasmodium</i>	Sangre	Giemsa, Gota gruesa, IC
<i>Giardia</i> + <i>Cryptosporidium</i>	Heces	IFD
<i>Entamoeba histolytica</i>	Heces	EIA

Abreviaturas: ^aLCR: Líquido cefalorraquídeo; ^bIC: Inmunocromatografía; ^cIFD: Inmunofluorescencia directa; ^dEIA: Enzimo inmunoensayo

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 2 de 20

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El propósito de este procedimiento es establecer las directrices para asegurar la calidad de la fase preanalítica en lo que afecta tanto a la recogida como al transporte de las muestras hasta la llegada al laboratorio de microbiología previo al procesamiento. Asimismo, este procedimiento establece las directrices del procesamiento inicial de la muestra de una manera general, una vez recibida en el laboratorio.

Este procedimiento es aplicable a todos los laboratorios de hospitales, centros de salud o cualquier laboratorio que realice determinaciones de microbiología clínica.

2. FUNDAMENTO

Todo el trabajo de un laboratorio de microbiología se convierte en inútil si las muestras clínicas que se reciben para el diagnóstico no son de calidad, es decir, no están correctamente recogidas y transportadas al laboratorio en las condiciones adecuadas para la determinación que se solicita. El laboratorio de microbiología debe proporcionar esta información a los servicios solicitantes para que tanto la recogida como el transporte y la conservación se hagan de manera apropiada.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica (Procedimiento 10). Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la SEIMC. Coordinadora Elena Loza Fernández de Bobadilla. 2000.
- Procedimientos específicos para cada tipo de técnica.

4. MUESTRAS

En la **tabla 3** se puede consultar con más detalle la muestra de elección para cada determinación microbiológica, recipientes, transporte y conservación de cada muestra. Como reglas generales cabe indicar las siguientes:

1. Antes de recoger la muestra, considerar el riesgo/beneficio de la recogida de la muestra para el paciente.
2. La muestra debe transportarse en envases adecuados con cierres a prueba de fugas (ver **tablas 4 y 5**). La recogida de la muestra deberá realizarse en condiciones de máxima asepsia, evitando contaminaciones ambientales del personal y del propio enfermo a la muestra y viceversa.
3. La muestra debe etiquetarse con el nombre del paciente, el servicio solicitante, el tipo de muestra y la fecha de recogida. En determinados casos será importante precisar la hora de recogida.
4. Se recomienda que cada muestra se introduzca en una bolsa de plástico que a su vez se introducirá en otra donde se incluya el volante. Así se evita que los posibles derrames de la muestra invaliden el volante de petición.
5. Se debe recoger una cantidad de muestra adecuada a la petición (ver **tabla 6**). En ocasiones

una escasa cantidad de muestra puede ser la causa de falsos negativos.

6. El material destinado a cultivo no debe estar en contacto con sustancias desinfectantes o anestésicas, siempre que sea posible.
7. La muestra se debe recoger, siempre que sea posible, antes de iniciar cualquier terapia antimicrobiana.
8. Se debe evitar, siempre que sea posible, el contacto de la muestra con microbiota normal del paciente, con el objeto de asegurar que la muestra refleje lo mejor posible el lugar de la infección.
9. El envío al laboratorio de microbiología debe ser lo más rápido posible con objeto de asegurar la supervivencia de microorganismos de difícil crecimiento y de evitar el sobrecrecimiento de la microbiota normal, acortar el tiempo de contacto con anestésicos locales o con otras sustancias con acción antimicrobiana utilizadas en la recogida de la muestra.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
		Edición N° 01	Página 3 de 20

Tabla 3.- Transporte y conservación de muestras para diagnóstico microbiológico

Muestra	Determinación	Envases	TRANSPORTE Tiempo y temperatura	CONSERVACIÓN Tiempo y temperatura
Abscesos/heridas quemaduras/mordeduras	Bacterias	Envase para anaerobios (pref.) o jeringa sin aguja (pref.)	≤2 h, TA	≤24 h, TA
	Hongos	Una para Gram, otra para cultivo (Amies/Stuart)		
		Estéril (pref.)/Torunda	≤2 h, TA	≤24 h, TA
Virus	Una torunda para tinción, otra para cultivo (Amies/Stuart)	Torunda seca ¹	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, -60/-80°C
Biopsias	Bacterias/Hongos	Estéril	≤15 min, TA	≤24 h, TA
	Virus	Estéril	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, -60/-80°C
Catéter/material protésico	Bacterias/Hongos	Estéril	≤15 min, TA	≤24 h, 2-8°C
Catéter urinario	No es aceptable			
Catéter drenaje	No se recomienda	Enviar líquido drenaje/abscesos/aspirados		
Genital (Secreción prostática)	Bacterias/Hongos	Estéril	≤2 h, TA	≤24 h, TA
Genital (cervical/ uretral/rectal)	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Medio transporte clamidia (cultivo)	Inoculación inmediata	
		Torunda seca (fluorescencia)		
Genital (cervical/rectal/ uretral)	Bacterias (gonococo)	Inoculación directa sobre medios de cultivo		
		Torunda con medio transporte	≤2 h, TA	≤24 h, TA
Genital (líq. amniótico)	Bacterias/Hongos	Transporte de anaerobios	≤15 min, TA	≤24 h, TA
Genital (úlceras) (cualquier localización)	Virus	Torunda seca ¹	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, -60/-80°C
Genital (semen)	No se recomienda			
Genital (úlceras) (cualquier localización)	<i>Treponema pallidum</i>	Campo oscuro	Inmediata visualización	
Genital (Uretral)	<i>Mycoplasma hominis</i>	Torunda de dacrón	Inocular a medio transporte	≤8 h, TA
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>		de mycoplasmas	≤36 h, 2-8°C
Genital (vaginal)	Bacterias/Hongos	Torunda con medio transporte (cultivo)	≤2 h, TA	≤24 h, TA
		Torunda seca para Gram		
Heces	Bacterias	Estéril con Cary Blair	≤2 h, TA	≤24 h, 2-8°C

Servicio de Microbiología Hospital.....	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
		Edición N° 01	Página 4 de 20

Muestra	Determinación	Envases	TRANSPORTE	CONSERVACIÓN
			Tiempo y temperatura	Tiempo y temperatura
	<i>Clostridium difficile</i>	Estéril	≤1 h, TA 1-24 h, 2-8°C >24 h, -20°C	48 h, 2-8°C para cultivo 72 h, 2-8°C (citotoxina) +72 h, -60/-80°C (citotoxina)
Heces/Rectal	Parásitos	Transporte con SAF, FOR + PVA, MIF + PVA	Indefinido, TA	Indefinido, TA
	Rotavirus	Estéril	2-8°C	
	Virus	Torunda seca ¹	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, °C
Jugo gástrico	Bacterias/Hongos	Estéril	≤2 h, 2-8°C	≤24 h, 2-8°C
	Micobacterias	Estéril	≤15 min, TA o neutralizar en la 1ª hora de la recogida	≤24 h, 2-8°C
Lesiones fúngicas (piel, pelo, uñas)	Hongos	Inoculación directa sobre medios de cultivo	≤24 h, TA	
Líquidos estériles	Bacterias	Estéril/botellas de hemocultivos transporte para anaerobios	≤15 min, TA	≤24 h, TA
	Hongos	Estéril	≤15 min, TA	≤24 h, 2-8°C
	Virus	Estéril	≤15 min, 2-8°C	≤72 h, 2-8°C
	Serología	Estéril	≤15 min, TA	≤24 h, 2-8°C
	Parásitos	Estéril	≤15 min, TA	≤24 h, TA
Médula ósea	Bacterias/Hongos	Estéril/botellas de hemocultivos	≤24 h, TA	≤24 h, TA
	Parásitos (<i>Leishmania</i>)	Estéril	≤2 h, TA	≤2 h, TA
	Virus	Estéril	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, -60/-80°C
Ocular (Conjuntival)	Bacterias/Hongos	Torunda con medio de transporte	≤2 h, TA	≤24 h, TA
Ocular (Raspado corneal)	Bacterias/Hongos	Inoculación directa en medios de cultivo	≤15 min, TA	≤24 h, TA
Ocular	Virus	Torunda seca ¹	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, -60/-80°C
Oído externo	Bacterias/Hongos	Torunda con medio de transporte	≤2 h, TA	≤24 h, 2-8°C
Oído interno	Bacterias/Hongos	Torunda con medio de transporte Transporte para anaerobios Tubo estéril	≤2 h, TA	≤24 h, TA

Servicio de Microbiología Hospital.....	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
		Edición N° 01	Página 5 de 20

Tabla 3.- Continuación

Muestra	Determinación	Envases	TRANSPORTE	CONSERVACIÓN	
			Tiempo y temperatura	Tiempo y temperatura	
Orina	Bacterias/Hongos	Estéril	≤2 h, TA (sin conservante)	≤24 h, 2-8°C	
		Tubos con conservante (ác. bórico-formiato sódico)	≤24 h, 2-8°C (con conservante)		
	Virus	Estéril	≤24 h, 2-8°C		
		<i>M. hominis/</i>	Estéril	Inocular en medio transporte	≤8 h, TA
	<i>U. urealyticum</i>		de micoplasma	≤36 h, 2-8°C	
	<i>Leptospira</i>	Estéril	≤1 h, TA		
	Parásitos	Estéril	≤2 h, TA	≤24 h, 2-8°C	
	Antígeno <i>Legionella</i>	Estéril		≤2 h, TA	≤24 h, TA
				≤24, 2-8°C +14 d, -20°C	
	Antígeno de neumococo	Estéril	≤2 h, TA	≤24 h, TA ≤24, 2-8°C +14 d, -20°C	
Orina suprapúbica	Bacterias	Transporte para anaerobios	≤2 h, TA	≤24 h, 2-8°C	
Rectal	Bacterias	Torunda con medio de transporte	≤2 h, TA	≤24 h, TA	
Sangre	Hemocultivo	Botellas de hemocultivos	≤2 h, TA	≤24 h, TA	
		Serología	Suero	≤24 h, 2-8°C	+24h, -20°C
		Plasma (no válido si hay que inactivar)			+24h, -60/-80°C (evitar descongelación)
	Virus	Plasma (con EDTA para técnicas moleculares)	≤2 h, TA		
	Carga vírica VIH	Plasma (nunca heparina)	≤2 h, TA	≤72 h, -20-°C +72h, -60/-80°C	
	Cultivo <i>Leishmania</i>	Sangre no coagulada (con heparina pref.)	≤15 min, TA		
	Parásitos	Sangre no coagulada (con EDTA)	≤15 min, TA		

Servicio de Microbiología Hospital.....	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
		Edición N° 01	Página 6 de 20

Tabla 3.- Continuación

Muestra	Determinación	Envases	TRANSPORTE Tiempo y temperatura	CONSERVACIÓN Tiempo y temperatura
Tracto respiratorio superior (sinusal)	Bacterias	Transporte para anaerobios/Estéril	≤15 min, TA	≤24 h, TA
	Hongos	Estéril		
Tracto respiratorio superior (faríngeo)	Bacterias/Hongos	Torunda con medio de transporte	≤2 h, TA	≤24 h, TA
Tracto respiratorio superior (faríngeo)	Antígeno <i>S. pyogenes</i>	Torunda seca (Dacrón/algodón)	≤2 h, TA	≤72 h, 2-8°C
	Virus	Torunda seca ¹	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, -60/-80°C
Tracto respiratorio superior (nasal)	Bacterias/Hongos	Torunda con medio de transporte	≤2 h, TA	≤24 h, TA
	Bacterias/Hongos	Torunda con medio de transporte	≤2 h, TA	≤24 h, TA
	Virus	Torunda seca ¹	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, -60/-80°C
Tracto respiratorio superior (nasofaríngeo)	<i>Bordetella pertussis</i>	Torunda seca de alginato	Inmediato/2-8°C	
Tracto respiratorio Inferior²/esputo	Bacterias/Hongos	Estéril	≤2 h, TA	≤24 h, 2-8°C
	Virus	Estéril	Transferir a TV, ≤24 h, 2-8°C	+24 h, -60/-80°C

¹Para virus: Se aceptan torundas de algodón, dacrón o rayón con bastón de aluminio o plástico. No aceptar torundas de alginato o con bastón de madera. ²Muestras del tracto respiratorio inferior: aspirado bronquial, lavado broncoalveolar, cepillado por telescopado, aspirado traqueal, punción transtorácica aspirativa con aguja ultrafina.
Abreviaturas: TA: temperatura ambiente, TV: medio de transporte de virus; SAF: acetato sódico-formalina, FOR: 10% formalina, MIF: mertiolato-ioduro-formalina; pref.: preferentemente.

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 7 de 20

Tabla 4.- Sistemas de transporte para la investigación de microorganismos aerobios

Sistema de transporte	Comentarios
Torundas con medio de transporte	Torundas en tubos de plástico con medio de transporte que mantiene un pH favorable y previene la desecación de la muestra.
Torundas de alginato cálcico	Útiles para la investigación de <i>Chlamydia</i> spp. y <i>Bordetella</i> spp. Pueden ser tóxicas para <i>N.gonorrhoeae</i> , <i>U. urealyticum</i> y virus útiles para la toma de muestra de conexiones de catéteres intravasculares.
Torundas de dacrón	Útiles para la investigación de virus
Torundas de algodón	Pueden inhibir a <i>Chlamydia</i> spp. Cuando la torunda es de madera, puede inactivar a virus del grupo Herpes e interferir con las pruebas de identificación de <i>Ureaplasma</i> .
Torundas para exudados nasofaríngeos	Torundas flexibles que emplean alambre en lugar de varilla de madera
Tubos estériles de boca ancha	Útiles para el transporte de orinas, esputos, broncoaspirados, lavados broncoalveolares, heces, biopsias.
Tubos estériles	Líquidos estériles, catéter telescópico, aspirados de abscesos y heridas
Tubos estériles con medio de transporte o conservante	Tubo estéril con medio de transporte (Cary Blair) para enteropatógenos en heces. Tubo con fijador (alcohol polivinílico) para parásitos en heces. Tubo con conservante (ácido bórico-formiato de sodio) para orinas. Mantiene la población bacteriana durante 48h a temperatura ambiente sin necesidad de refrigeración.
Placas de Petri estériles	Útiles para pelos, escamas cutáneas y uñas

Tabla 5.- Sistemas de transporte para la investigación de microorganismos anaerobios

Sistema de transporte	Comentarios
Torundas con sistemas de transporte específicos para anaerobios	
Viales y tubos con atmósfera anaerobia	Contienen un medio de transporte semisólido con un agente reductor y un indicador. Cualquier coloración azul de dicho medio indica exposición al aire.
Bolsas de anaerobiosis	La muestra se introduce en el interior de una bolsa impermeable en cuyo interior se introduce un catalizador y un generador de hidrógeno y CO ₂ .
Jeringa para la obtención de aspirados	Cuando no se dispone de ninguno de los sistemas anteriores o bien la cantidad de muestra es mínima, puede utilizarse la misma jeringa con la que se ha obtenido. Para ello hay que eliminar el aire y taponar la aguja con un tapón de goma.

Tabla 6.- Consideraciones sobre la toma de las muestras

1. Consideraciones sobre la toma de las muestras del sistema nervioso central

Cultivo	Volumen mínimo recomendado (ml)	Comentarios
Bacterias	1	Enviar el tubo mas turbio
Hongos	2	Descartar <i>Cryptococcus</i> spp.
Micobacterias	2	
Anaerobios	2	Abscesos y biopsias
Parásitos	2	Abscesos o biopsias. <i>Naegleria</i> spp. y <i>Acanthamoeba</i> spp. también en LCR.
Virus	1-2	

2.- Consideraciones sobre los líquidos estériles

Cultivo	Volumen (ml)	Comentarios
Bacterias	1-5	Especificar sospecha de artritis gonocócica
Hongos	> 10	
Micobacterias	> 10	
Anaerobios	1-5	Usar un medio de transporte con anaerobiosis

3.- Consideraciones sobre las muestras del tracto respiratorio

Cultivo	Volumen (ml)	Comentarios
Bacterias	No aplicable	Especificar sospecha de <i>Legionella</i>
Hongos	3-5	Espustos, broncoscopias, aspirados y biopsias pulmonares
<i>Pneumocystis jiroveci</i>	2	Esputo inducido, lavado broncoalveolar o biopsia pulmonar
Micobacterias	5-10	Esputo, broncoscopia, aspirados y biopsias pulmonares
Anaerobios	1	Aspirado sinusal, timpanocentesis, aspirados y biopsias pulmonares
Parásitos	3-5	Amebas, huevos de helmintos, larvas de <i>Echinococcus</i> , <i>Ascaris</i> y <i>Strongyloides</i> spp.

4. Consideraciones sobre las muestras oculares

Cultivo	Comentarios
Bacterias	Inocular los medios directamente
Hongos	Inocular los medios directamente
Micobacterias	No usar torundas
Anaerobios	Líquido intraocular
Parásitos	Descartar <i>Acanthamoeba</i> spp.
<i>Chlamydia</i>	No usar torundas de algodón
Virus	No usar torundas de alginato cálcico

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 9 de 20

Tabla 6.- Continuación

5. Consideraciones sobre las muestras gastrointestinales

Cultivo	Comentarios
Bacterias	Heces Biopsia gástrica: <i>Helicobacter pylori</i> Torunda rectal: Patógenos entéricos (especialmente <i>Shigella</i> spp.) y <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
Hongos	Jugo gástrico, biopsia gástrica, biopsia esofágica
Micobacterias	Jugo gástrico, biopsia gástrica, heces
Parásitos	Jugo duodenal (<i>Giardia</i> spp y <i>Strongyloides stercoralis</i>) Biopsia rectal: <i>Entamoeba histolytica</i> Biopsias intestino delgado: <i>Giardia</i> spp. <i>Cryptosporidium</i> y <i>Microsporidium</i> spp.
Virus	Biopsia esofágica (CMV y Herpes) y biopsia rectal (Herpes).

6.- Consideraciones sobre las muestras de orina

Cultivo	Volumen (ml)	Comentarios
Bacterias	0,5-1	No válidas orinas de 24 horas
Hongos	> 20	No válidas orinas de 24 horas
Micobacterias	> 20	No válidas orinas de 24 horas
Anaerobios	1	Sólo en orinas suprapúbicas
Parásitos	Orina de 24 horas	<i>Schistosoma haematobium</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Onchocerca volvulus</i>
Virus	10-50	No válidas orinas de 24 horas. Adenovirus y CMV

7.- Consideraciones sobre las muestras del tracto genital y enfermedades de transmisión sexual.

Cultivo	Muestra recomendada
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cervical, uretral, anal
Bacterias	Cervical, vaginal, secreción prostática
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Vaginal, secreción prostática
Hongos	Anal, vaginal, cervical
Anaerobios	Abscesos
Virus Herpes	Úlceras genitales
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Uretral, vulva, cervical
<i>Treponema pallidum</i>	Úlceras genitales
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Uretra, secreción prostática
Linfogranuloma venéreo	Rectal, cervical, uretral, úlceras genitales
<i>Haemophilus ducreyi</i>	Úlceras y nódulos genitales

8.- Consideraciones sobre las muestras de piel y tejidos blandos

Cultivo	Comentarios
Bacterias	Usar aspirados con jeringas o biopsias de tejido preferiblemente
Hongos	Dermatofitos, levaduras, filamentosos y hongos dimórficos
Micobacterias	<i>Mycobacterium marinum</i> , <i>Mycobacterium fortuitum</i> y <i>Mycobacterium chelonae</i>
Anaerobios	Poco comunes en infecciones superficiales, investigar sobre todo en mordeduras y traumas
Virus	Virus herpes simplex y varicella zoster

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 10 de 20

4.1. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO DE LAS MUESTRAS/TOMA DE DECISIONES

El laboratorio de microbiología debe determinar, una vez recibida la muestra en el laboratorio, si ésta cumple con los requisitos para ser procesada. Estos requisitos incluyen entre otros, una correcta identificación, tipo de muestra adecuada para la petición, y condiciones adecuadas de transporte y conservación. Es necesario que cada laboratorio establezca y difunda a los servicios peticionarios sus propios requisitos de la aceptación de una muestra para estudio microbiológico.

El laboratorio de microbiología debe disponer también de un sistema de registro de estas incidencias en el que figure la muestra implicada, la persona que realiza la recepción de la muestra, el tipo de incidencia, la persona con la que se contacta del servicio solicitante y la resolución de la incidencia (si la muestra no se procesa, si finalmente se decide su procesamiento y en qué condiciones, etc.). Como sugerencia se podía utilizar el formato del **Anexo 1, Registro de incidencias en la recepción de las muestras**.

Las incidencias más frecuentes en la llegada de una muestra al laboratorio de microbiología y las acciones a realizar (toma de decisiones) ante cada caso son las siguientes:

- Muestra deficientemente identificada: no se aceptará una muestra sin identificar, mal identificada o en la que no coincidan la identificación del volante de petición con la de la muestra. En cualquier caso se contactará con el servicio peticionario haciéndole conocer la necesidad de que procedan a la correcta identificación de la muestra. Si se puede recoger otra muestra, se solicitará nuevamente. Dependiendo de la importancia de la muestra, se puede optar a su procesamiento antes de la correcta identificación con el objeto de que no se deteriore la misma.
- Muestras derramadas: no se aceptarán muestras claramente derramadas y se solicitará una nueva muestra. Se procederá como en el caso anterior solicitando una nueva muestra. En el caso de no ser posible la recogida de una nueva muestra, desinfectar externamente el envase o trasvasar la muestra a un contenedor estéril. En este caso, se indicará en el informe que la muestra estaba derramada y que los resultados deben ser interpretados con la debida precaución.
- Transporte/conservación inadecuados: si no se cumplen los requisitos de la **tabla 3**, se solicitará nueva muestra. En el caso de muestras que no se puedan volver a recoger (por ejemplo: muestras quirúrgicas) se puede optar por procesarlas informando por escrito al servicio solicitante de la incidencia en la recogida/transporte de la muestra y alertando de que los resultados obtenidos deben ser interpretados con la precaución correspondiente. En el caso de que el transporte deficiente invalide totalmente el estudio microbiológico (por ejemplo,

muestras en formol), no se aceptarán estas muestras y se informará al servicio solicitante de la inadecuación de la muestra.

4.2. MANTENIMIENTO DE MUESTRAS TRAS EL PROCESAMIENTO

Es recomendable mantener las muestras conservadas (dependiendo de la muestra/petición: a temperatura ambiente, en estufa de 35-37°C, en nevera de 2-8°C, o congeladas a -20°C ó a -70°C) un tiempo tras su procesamiento. El tiempo de conservación debe ser aquel que garantice que un problema en el procesamiento o en la interpretación de los cultivos pueda ser solucionado recuperando la muestra para un nuevo procesamiento. El tiempo mínimo oscila entre 1-3 días. Se recomienda guardar tanto las muestras procesadas como las rechazadas (no procesadas).

4.3. TRANSPORTE DE MUESTRAS POR SUPERFICIE Y POR VÍA AÉREA

Cada vez es más frecuente la realización de procedimientos microbiológicos en lugares distantes al de la toma de muestra. Aunque es obvio que las muestras biológicas, sean infecciosas o no, deben estar correctamente empaquetadas y etiquetadas para su transporte y envío, se ha hecho necesario el desarrollo de legislaciones o guías específicas, tanto a nivel nacional como internacional, debido al aumento del transporte de muestras fuera de los recintos hospitalarios y entre los distintos centros sanitarios. El objetivo de este desarrollo es el reducir al mínimo posible el riesgo de accidentes.

4.3.1.- Transporte internacional aéreo. Las regulaciones internacionales para el transporte de material infeccioso están basadas en las Recomendaciones del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el Transporte de Artículos Peligrosos. Estas recomendaciones están incluidas en las regulaciones de la Unión Postal Universal (UPU), La Organización Internacional de Aviación (OIA) y la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA), todas ellas asesoradas por la OMS.

Actualmente, las muestras se clasifican en **sustancias infecciosas** (clasificadas dentro de uno de los cuatro grupos de riesgo definidos por la OMS) y en **muestras para diagnóstico**.

La modificación en enero de 2003 de la clasificación de una muestra como muestra para diagnóstico permite que las que cumplan este criterio puedan ser clasificadas como ONU 3373 y embaladas según las instrucciones de embalaje 650 del manual de la IATA, con las siguientes excepciones:

- patógenos del grupo 4 de riesgo.
- Agentes identificados y patógenos nuevos o emergentes.
- Cultivos o "stocks" en grandes concentraciones.

En los tres casos anteriores los envíos deberán seguir siendo clasificados bajo ONU 2814 ó 2900 y

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 11 de 20

embalados de acuerdo con la instrucción del embalaje 602 de IATA.

Sistema básico de embalaje (ver figura 1). Se compone de:

Recipiente primario estanco, a prueba de filtraciones, etiquetado, que contiene la muestra. El recipiente debe envolverse en material absorbente.

Recipiente secundario estanco, a prueba de filtraciones, que encierra y protege el recipiente primario. Se pueden colocar varios recipientes primarios envueltos en un recipiente secundario. Se debe usar suficiente material absorbente para proteger a todos los recipientes primarios y evitar choques entre ellos.

Recipiente externo de envío. El recipiente secundario se coloca en un paquete de envío que protege al recipiente secundario y su contenido de los elementos externos, tales como daño físico y agua, mientras se encuentra en tránsito.

Los formularios con datos, cartas y otras informaciones de identificación de la muestra deben colocarse pegados con cinta adhesiva en el exterior del recipiente secundario.

Para el transporte de sustancias infecciosas se debe utilizar el sistema de embalaje básico con requerimientos específicos de etiquetado y documentación.

En los vuelos internacionales está estrictamente prohibido que los pasajeros transporten sustancias infecciosas con ellos o en su equipaje de mano. Igualmente está prohibida la utilización del correo diplomático para el transporte de este tipo de material.

La Guía para el transporte de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos, publicada por la OMS en 1997, permite un conocimiento detallado de los requerimientos específicos para las diferentes situaciones que se pueden plantear ante el envío de material biológico, algunos de los cuales se plantean a continuación:

1. Cantidad de sustancias infecciosas que pueden enviarse en un paquete.
2. Tipos de etiquetas de riesgo para sustancias infecciosas y para microorganismos genéticamente modificados.
3. Tipos de etiquetas de riesgo para microorganismos no infecciosos.
4. Etiquetas para envío con dióxido de carbono (hielo seco).
5. Información que debe figurar en la etiqueta.

6. Normas para envío con refrigerantes (dióxido de carbono y nitrógeno líquido).

7. Ejemplos de formato de los documentos de envío (los originales pueden obtenerse de la compañía transportadora).

4.3.2.- Transporte nacional y local por superficie.

Otras posibilidades de transporte de material biológico incluyen el traslado de muestras dentro de un hospital o centro, de un centro de salud a un hospital, de un laboratorio a otro, de un hospital a otro dentro de la misma ciudad o a otra ciudad. Estos servicios de entrega deben ser gestionados por el propio hospital, por el servicio de salud o por cualquier organización de transportes o agencia que haya sido autorizada.

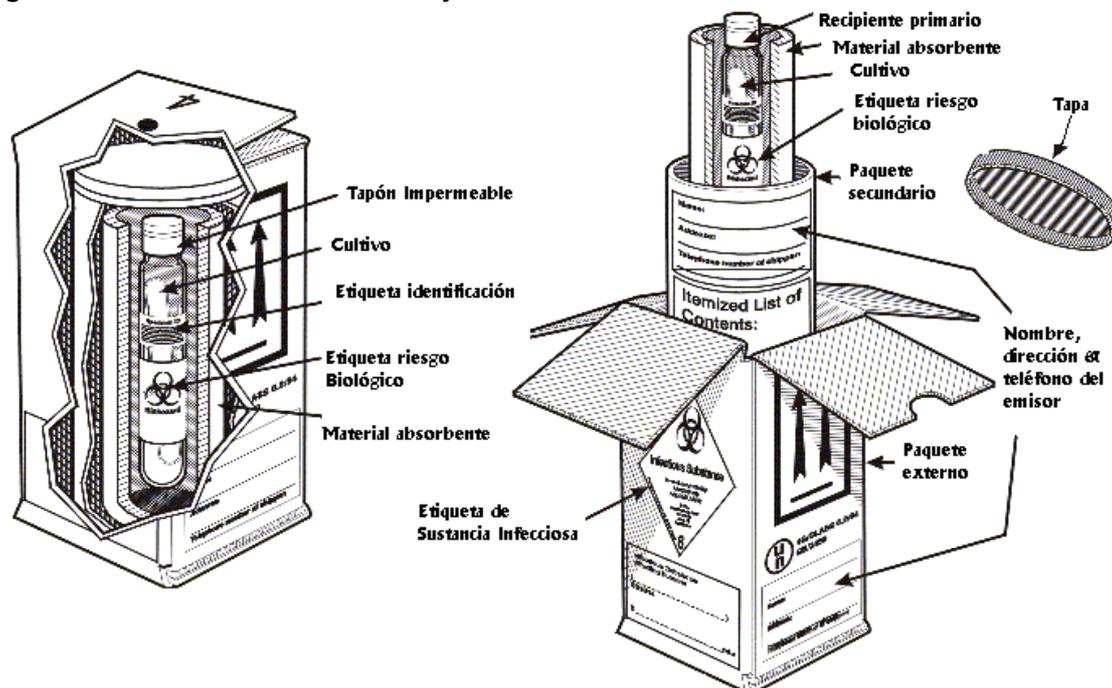
Los principios en los que se basa un transporte seguro son los mismos que se aplican para el transporte internacional y la finalidad es que la muestra no tenga ninguna posibilidad de salir del embalaje en las circunstancias normales de transporte.

Para el embalaje y transporte de material biológico en estas situaciones (transporte local por superficie) se recomienda un embalaje tipo, como el envase homologado de la **figura 1** y se deben tener en cuenta las siguientes indicaciones:

1. Los recipientes de las muestras deben ser herméticos y a prueba de fugas de líquidos.
2. Si el recipiente es un tubo, debe estar cerrado herméticamente, con tapa de rosca y colocado en una gradilla, de tal forma que mantenga su posición vertical.
3. Los recipientes con muestras y gradillas deben colocarse en una caja resistente de metal o plástico y a prueba de fugas de líquido, que contenga una cubierta segura y que cierre perfectamente.
4. La caja donde se transportan los materiales deberá ser asegurada firmemente en el vehículo de transporte.
5. Cada caja de transporte deberá estar etiquetada de forma adecuada y de acuerdo a su contenido.
6. Los formularios con los datos de identificación de los especímenes deben acompañar a cada caja de transporte.
7. El vehículo de transporte deberá ir provisto de material absorbente, desinfectantes, un contenedor para desechos a prueba de fugas líquidas y guantes resistentes de uso múltiple.

El transporte de material biológico requiere una buena colaboración entre el remitente, la compañía de transporte y el destinatario, y cada uno debe asumir sus responsabilidades para garantizar que el producto llega a su destino oportunamente y en buenas condiciones.

Figura 1.- Sistema básico de embalaje



Empaquetado y etiquetado para el envío de sustancias infecciosas

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Los medios de cultivo y reactivos recomendados para el procesamiento de muestras se detallan en la **tabla 7**. Las condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, etc.) de los reactivos y medios de cultivo utilizados deben ser establecidas, controladas y revisadas (ver más detalles en el apartado 6).

Se deben realizar, con periodicidad (semanal, mensual, trimestral, etc.) establecida por el propio laboratorio, una revisión de los materiales almacenados (cantidad, caducidades, estado general) con el fin de comprobar el estado de los mismos, verificando su correcta ubicación en los espacios identificados y definidos para ellos en el almacén y su aptitud para el uso (ver como ejemplo de formato el del **Anexo 2, Revisión de almacén**).

6. APARATOS Y MATERIAL

Los equipos habituales necesarios en el procesamiento de una muestra para estudio microbiológico son:

- Estufas
- Congeladores
- Neveras
- Centrifugas

De manera periódica (preferiblemente a diario) debe controlarse la temperatura (y humedad/presión de CO₂ si fuera necesario) de cada estufa/nevera/congelador al inicio de la jornada de trabajo con un termómetro situado permanentemente en el centro de cada equipo. El termómetro debe permitir la medida de la temperatura máxima y mínima alcanzadas. Se anotará en la hoja de registro de temperatura de cada aparato (como ejemplo se propone la del **Anexo 3, Registro de temperatura**) y en el caso de temperaturas mínima o máxima fuera del

rango de aceptación, anotar la incidencia y realizar las acciones frente a esa variación. Estas acciones, por un lado, deben asegurar los resultados derivados de los cultivos y por otro corregir esa desviación.

De una manera genérica se sugieren los siguientes intervalos de aceptación:

- estufas de 35-37°C se acepta una mínima superior o igual a 34°C y máxima inferior o igual a 37,5°C
 - estufas de 42°C se aceptan variaciones entre 40-43°C
 - estufas de 30°C se aceptan variaciones entre 28-32°C
- Para las neveras el intervalo de tolerancia que se acepta es generalmente de 2°-8°C, aunque puede variar en función de los reactivos que contengan.

Todos los termómetros utilizados en la medida de temperaturas de los aparatos se han de verificar mediante un termómetro de referencia calibrado. Se introducirá el termómetro utilizado para la medición de la temperatura y el termómetro calibrado en el equipo correspondiente (nevera, congelador o estufa) durante un mínimo de 15 minutos. Se aceptarán aquellos termómetros cuyos desvíos no sobrepasen los límites establecidos para cada uso concreto. La periodicidad de la verificación de los termómetros con el termómetro calibrado debe ser establecida por el propio laboratorio.

Existen sistemas automáticos para el control de la temperatura, humedad, presión de CO₂, etc., que controlan de una manera permanente (en intervalos de 15-20 minutos) los anteriores parámetros con gran fiabilidad y que utilizan sondas de referencia verificadas por organismos certificados. Estos sistemas alertan de los desvíos que se producen de una manera más rápida

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 13 de 20

Tabla 7.- Recomendaciones de medios de cultivo y tinción de Gram para muestras microbiológicas seleccionadas

Muestras/Microorganismo	Gram	AS	ACH	MCK	Tio/BHI	Otros
Biopsias	X	X	X	X	X	Medios anaerobios ¹
Biopsias (intestinal, colon, rectal)						<i>C.difficile</i> Enteropatógenos
Biopsias gástricas	X					<i>Helicobacter pylori</i>
Catéter vascular		X				
Conexiones/Piel pericatéter		X				
Genitales						
Rectal		X				<i>S. agalactiae</i>
Uretral	X		X			Thayer Martin
Cervical		X	X			Thayer Martin
Secreción prostática		X	X	X	X	
Vaginal		X				<i>S. agalactiae</i>
Heces						Caldo Selenito, SS o similar <i>Campylobacter</i> selectivo Sangre ampicilina
Heridas profundas, mordeduras, quemaduras, úlceras, abscesos	X	X	X	X	X	Medios anaerobios ¹
Heridas superficiales	X	X	X	X	X	
Jugo gástrico		X	X	X	X	Medios anaerobios ¹
Líquidos estériles						
L. ascítico, peritoneal, pericárdico, sinovial	X	X	X	X	X	Medios anaerobios ¹
L. pleural	X	X	X	X	X	BCYE Medios anaerobios ¹
Líquido cefalorraquídeo	X	X	X		X	
Ocular						
Exudado conjuntival		X	X			
L. intraocular	X	X	X	X	X	Medios anaerobios ¹
Oído externo		X	X	X		
Timpanocentesis	X	X	X	X	X	
Orina (micción, sondaje)		X		X		Agar Cled
Orina suprapúbica	X	X	X	X		Medios anaerobios ¹
Tracto respiratorio inferior						
Broncoaspirado	X	X	X	X		BCYE
Cepillado bronquial con telescopado	X	X	X	X		BCYE Medios anaerobios ¹
Lavado broncoalveolar	X	X	X	X		BCYE
Espujo	X	X	X	X		
Tracto respiratorio superior						
Aspirado sinusal	X	X	X	X	X	Medios anaerobios ¹
Faringeo		X				Alternativa CNA
Nasal		X				Agar Manitol sal CCFA
<i>Clostridium difficile</i>						Sorbitol-MCK
<i>E.coli</i> O157H7						Bordet Gengou
<i>Bordetella pertussis</i>						IFD si no cultivo
<i>Helicobacter pylori</i>		X				Agar <i>Helicobacter</i> Thayer Martin Agar <i>Brucella</i>
<i>Legionella</i>						BYCE
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>			X			Thayer Martin
<i>Streptococcus agalactiae</i>		X				Todd-Hewitt Agar Granada
<i>Vibrio</i>						TCBS
<i>Yersinia</i>						CIN

¹ medios anaerobios: agar sangre para anaerobios (*Brucella* agar), agar feniletanol para anaerobios.

agar sangre lacada-vancomicina-kanamicina (ASKVL), agar *Bacteroides bilis* esculina (BBE)

Abreviaturas: AS: Agar sangre; ACH: Agar chocolate; MCK: Agar MacConkey; Tio/BHI: Caldo tioglicolato ó infusión cerebro-corazón de buey; BCYE: agar enriquecido para cultivo de *Legionella*; CNA: agar sangre colistina-ácido nalidixico; CCFA: agar cicloserina-cefoxitina-fructosa-yema de huevo; TCBS: agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa; CIN: agar cefsulodina-irgasán-novobiocina

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 14 de 20

que el control manual, controlan todos los equipos del laboratorio y generan los informes de estos parámetros.

7. PROCESAMIENTO

7.1. RECEPCIÓN DE LA MUESTRA

Cada laboratorio de microbiología debe disponer de unas normas de recepción y aceptación de muestras para diagnóstico microbiológico. En el acto de la aceptación de muestras por el laboratorio se deben comprobar los siguientes aspectos:

- La trazabilidad, es decir, la correspondencia de la muestra con el volante de petición (con el paciente). En la petición se debe incluir:
 - Nombre completo del paciente, número de historia o de la seguridad social o DNI
 - Servicio solicitante, nombre del médico solicitante
 - Tipo de muestra (descripción completa y método de obtención)
 - Hora y/o fecha de recogida
 - Enfermedad de base y motivo de la petición
- El correcto transporte de la muestra para la petición solicitada
- La petición correcta de determinaciones microbiológicas

7.2. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

El laboratorio someterá a la muestra a un procesamiento en función de sus protocolos de trabajo y de la información que aporta el servicio solicitante sobre la muestra y el paciente. Así el procesamiento dependerá de varios factores:

- Petición del servicio solicitante
- Tipo de muestra/técnica de obtención
- Diagnóstico del paciente/enfermedad de base
- Motivo de petición
- Cualquier otra información aportada en el volante de la petición

De una manera general podemos considerar estos tipos de procesamiento de las muestras para microbiología de la siguiente forma:

7.2.1.- Pretratamiento de la muestra

7.2.1.1. Centrifugación

- Centrifugar todos los líquidos en volumen superior a 1ml a 2.500 rpm durante 15 minutos
- Centrifugar sangre a 3.500 rpm durante 3-5 minutos para detección de antígenos y/o anticuerpos
- Otras técnicas de concentración específicas: precipitación en etanol, ultracentrifugación selectiva, etc.

7.2.1.2. Homogeneización

7.2.1.2.1 Mediante hoja de bisturí

- Traspasar la muestra a una placa de Petri estéril. Con ayuda de una hoja de bisturí desmenuzar el tejido hasta obtener una consistencia homogénea.
- Traspasar la muestra homogeneizada a un contenedor estéril con ayuda de una pipeta Pasteur.

7.2.1.2.2. Mediante mortero

- Traspasar la muestra al interior de un mortero estéril y añadir 1-2 ml de caldo de cultivo
- Con ayuda de la mano del mortero triturar la muestra mediante movimientos rotatorios
- Traspasar la muestra utilizando una pipeta Pasteur estéril a un contenedor estéril

7.2.1.2.3. Mediante Stomacher

- Colocar la muestra en el interior de una bolsa de Stomacher y añadir 1-2 ml de caldo de cultivo
- Colocar la bolsa en el interior del Stomacher, dejando unos centímetros de la bolsa sobresalir sobre la tapa del Stomacher.
- Cerrar la tapa y conectar el Stomacher durante 1 a 5 minutos.
- Desconectar el Stomacher, extraer la bolsa y traspasar su contenido a un contenedor estéril.

Las muestras que se procesen para hongos no se homogenizan sino que se deben cortar en pequeños trozos con la ayuda del bisturí y se inoculan directamente sobre los medios de hongos con objeto de evitar que determinados hongos no septados sean inviábiles.

7.2.2.- Preparación de extensiones

7.2.2.1. Mediante impronta: Piezas de tejido

- Colocar el tejido en una placa de Petri y cortar una porción con la ayuda de una hoja de bisturí
- Con unas pinzas, tomar la pieza cortada y realizar impresiones por la superficie del corte sobre un portaobjetos

7.2.2.2. Extensiones finas: material muy purulento

- Tomar una porción de la muestra y colocarla sobre un portaobjetos
- Colocar otro portaobjetos sobre la muestra y presionar los dos portaobjetos
- Desplazar el portaobjetos superior sobre el que contiene la muestra hasta separarlos
- Repetir este último paso hasta conseguir una extensión fina

7.2.2.3. Líquidos

- Depositar una gota de líquido sobre un portaobjetos y dejar secar
- Citocentrifugar unas gotas de líquido 5-10 min. a velocidad media

7.2.2.4. Muestras en torunda

- Colocar la torunda sobre un portaobjetos
- Añadir sobre la torunda una pequeña cantidad de caldo de cultivo
- Realizar movimientos rotatorios, exprimiendo la torunda sobre el portaobjetos

7.2.3. Inoculación de la muestra en los medios de cultivo: selección de los medios: (ver tabla 7)

7.2.3.1. Piezas no triturables

Si la pieza es pequeña, introducirla en un caldo de cultivo e incubar 24 horas tras lo cual se harán subcultivos a los medios necesarios.

- Si la muestra es grande, añadir al contenedor en el que se recibe 10-20 ml de caldo de enriquecimiento e incubar inmediatamente.

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha:	
Hospital.....		PNT-RPT-01	
		Edición N° 01	Página 15 de 20

Tras 24 horas realizar subcultivos a los medios necesarios.

7.2.3.2. Muestras recibidas en jeringas o tubos estériles

- Inocular 2 ó 3 gotas de la muestra en uno de los cuadrantes de la placa de Petri
- Realizar estriamientos de la muestra mediante un asa estéril por todos los cuadrantes de la placa
- Inocular unas gotas de la muestra en un caldo de cultivo

7.2.3.3. Muestras recibidas en torundas

- Hacer rotar la torunda varias veces en uno de los cuadrantes de la placa
- Con un asa estéril realizar estrías desde la zona de la descarga por el resto de los cuadrantes de las placas.
- Introducir la torunda en un caldo de cultivo y exprimirla bien mediante movimientos rotatorios sobre las paredes del tubo. Cortar la parte superior y mantener en incubación una porción de la misma en el interior del tubo con caldo de cultivo.

7.2.3.4. Técnica de Maki para cultivo de catéteres intravasculares

- Con la ayuda de una asa o de unas pinzas estériles extraer el catéter de su envase.
- Si mide más de 2-4 cm, cortarlo con un bisturí hasta esa longitud.
- Depositarlo en una placa de agar sangre y rodar desde un extremo al otro de la placa 3-4 veces

7.2.3.5. Cultivos semicuantitativos (conexión catéteres/piel pericatóter)

- Extender la muestra con la torunda seca por toda la placa de agar sangre como si de un cultivo cuantitativo de orina se tratara

7.2.3.6. Cultivos cuantitativos (orina, broncoaspirados, secreciones traqueales, lavados broncoalveolares)

- En el caso de muestras respiratorias fluidas, agitar en vórtex durante unos segundos. Si no se consigue una buena homogeneización, añadir suero salino y agitar en vórtex de nuevo. Indicar en los medios de cultivo la dilución aproximada realizada con el suero salino. En el caso de la orina pasar directamente al siguiente paso.
- Esterilizar un asa calibrada de volumen adecuado (por ejemplo de 0,0025 mL) con el incinerador o mediante llama.
- Enfriar el asa e inocular la muestra con la ayuda del asa en los medios adecuados, realizando un cultivo cuantitativo por toda la superficie de la placa.

7.2.4. Incubación

7.2.4.1. Temperatura

- La mayoría de los cultivos bacterianos se incuban a 35-37°C

- El aislamiento de *Campylobacter* spp. de heces requiere una temperatura de incubación de 42°C

- La mayoría de los cultivos para hongos se incuban a 30°C

7.2.4.2. Atmósferas de incubación

- Aerobiosis
- Atmósfera enriquecida con 5-7% de CO₂
- Atmósfera microaerofílica para el aislamiento de *Campylobacter*. 5% de O₂, 10% CO₂ y 85% de N₂.
- Atmósfera de anaerobiosis

Cada laboratorio debe realizar una vigilancia de la calidad de los medios de cultivo que utiliza, tanto de los preparados en el propio laboratorio (aparición, crecimiento/inhibición, esterilidad) como de los que se adquieren comercialmente.

El laboratorio debe solicitar al proveedor de medios de cultivo los certificados de los controles de calidad donde deben estar incluidas las características físicas y químicas que definen al medio de cultivo. Esos certificados deben conservarse en el laboratorio. Asimismo, se deberán realizar controles de calidad a los medios adquiridos comercialmente. El propio laboratorio debe elegir tanto la periodicidad como la selección de los medios a los que realizar el control de calidad en función del tipo de medios que utilice, la variedad y los datos históricos de la conformidad de los controles realizados por el laboratorio con las características que el proveedor facilite: un medio estable y que no haya ocasionado problemas de crecimiento según registros previos se debe controlar menos que uno que sea menos estable y haya ocasionado problemas en su uso. El laboratorio debe generar registros de este control de medios adquiridos de proveedores y conservar estos registros para poder evaluar los medios y reconsiderar permanentemente el control de calidad de los mismos. Como ejemplo de formato para el registro de control de medios adquiridos comercialmente se propone el formato del **Anexo 4, Control de medios preparados**. Con este control no sólo se evalúa la conformidad del laboratorio con los medios que adquiere ya preparados sino que también se evalúan las condiciones de procesamiento, estufas y atmósferas utilizadas. Para el control de los medios se deben utilizar preferentemente cepas de colección (ATCC, CECT u otras colecciones) pero en el caso de no tener acceso a estas cepas se podrán utilizar cepas aisladas en el propio laboratorio con características perfectamente definidas.

8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Las incidencias surgidas en la recogida de la muestra para estudio microbiológico se deben informar lo antes posible al servicio solicitante con el objeto de que la resolución sea inmediata. Cuando la información sea telefónica, los interlocutores deben quedar identificados,

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 16 de 20

y esta información debe seguirse siempre de un informe escrito a la mayor brevedad posible.

9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del laboratorio de microbiología si se realiza en él la toma de la muestra.

La información sobre las normas de recogida, transporte y conservación y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.

El procesamiento de la muestra es responsabilidad del laboratorio de microbiología.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Todo el personal del laboratorio de microbiología deberá conocer las normas generales de seguridad. El laboratorio de microbiología debe establecer las normas de seguridad en un Manual de Seguridad y distribuirlo a todo el personal que trabaje en el laboratorio. Para más información, se puede consultar el procedimiento número 10 de la SEIMC sobre Seguridad en el Laboratorio de Microbiología en el que se detallan los niveles de contención necesarios para cada microorganismo.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Todas las limitaciones del proceso de recogida, transporte, conservación y procesamiento de muestras han sido expuestas a lo largo del documento. Estas limitaciones deben quedar registradas con el objeto de que puedan ser medidas periódicamente y de poder disponer de datos de su evolución correspondientes. Cada laboratorio de microbiología debe establecer indicadores de los procesos de recogida, transporte, conservación y procesamiento de muestras con el objeto de llevar a cabo las correspondientes acciones cuando estos indicadores estén fuera del rango de los límites establecidos.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Enmiendas propuestas por Portugal y España a los anexos A y B del Acuerdo Europeo sobre Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por carretera (ADR), hecho en Ginebra el 30 de septiembre de 1957. Suplemento del BOE nº 70 de 22 de marzo de 2002. Fascículo primero, pp. 178-184.
2. Fleming, D.O. D.L. Hunt. 2000. Biological safety: principles and practices. 3rd ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
3. Isenberg, H. 1992. Clinical Microbiology Procedures Handbook. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
4. ISO 9001:2000. Sistema de gestión de la calidad. Requisitos.
5. ISO 9001:2000. Sistema de gestión de la calidad. Fundamentos y vocabulario.
6. ISO 9004:2000. Sistema de gestión de la calidad. Directrices para la mejora del desempeño.
7. Mandell, G., J. Bennett, and R. Dolin. 2000. Principles and practice of infectious diseases, 5th ed. Churchill Livingstone, New York.

8. Miller, J.L. 1996. A guide to specimen management in clinical microbiology. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
9. Murray, P.R. 1998. Pocket guide to clinical microbiology. 2nd ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
10. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
11. Orden de 4 de diciembre de 2001 por la que se actualizan las instrucciones técnicas para el transporte sin riesgos de mercancías peligrosas por vía aérea. Suplemento del BOE nº 299. de 14 de diciembre de 2001. Fascículo primero. pp. 68-71.

Anexo 1.- Registro de incidencias en la recepción de las muestras

Fecha: / /

Nº Muestra	Tipo Muestra	Servicio Peticionario	Persona que detecta incidencia	INCIDENCIA ¹	CONTACTO SERVICIO PETICIONARIO	RESOLUCIÓN	NO PROCESAR POR ¹ :	INTERPRETAR CON PRECAUCIÓN POR ¹ :
OBSERVACIONES:					Firma Facultativo:			

¹Describir la incidencia: derramada; transporte inadecuado; mal identificada; no especificada petición; no procede petición; falta muestra, etc.

Servicio de Microbiología	Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología	Fecha: PNT-RPT-01	
Hospital.....		Edición N° 01	Página 18 de 20

Anexo 2.- Revisión de almacén

REVISIÓN REALIZADA	
DESCRIPCIÓN DE LAS INCIDENCIAS DETECTADAS	
Fecha:	Firma (Responsable de Almacén)
RESOLUCIÓN (ACCIONES EMPRENDIDAS)	
RESPONSABLES:	
Fecha:	Firma:

Registro de revisión de almacén.

