

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 1 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

1.- PROPÓSITO:

Describir las condiciones de obtención y envío de muestras y cultivos fúngicos al Departamento Micología para Diagnóstico Referencial.

2.- RESPONSABLES:

Usuarios del servicio de Diagnóstico Referencial.

3.- DESCRIPCIÓN:

I. Generalidades

El diagnóstico microbiológico correcto depende de múltiples factores a tener en consideración:

- Calidad de la muestra.
- Condiciones de conservación y transporte.
- Procesamiento, inoculación en medios de cultivo apropiados.
- Experiencia del personal de laboratorio.

El incumplimiento de alguna de las normas establecidas o el desconocimiento de las mismas por parte del personal técnico puede determinar el fracaso del diagnóstico microbiológico. La calidad de los resultados del laboratorio depende en gran medida de la adecuada recolección y manipulación de las muestras.

En la parte **c** de la **sección III** del instructivo se detallan las condiciones de las muestras para cada una de las pruebas provistas por el Departamento Micología.

En el instructivo **Requisitos para el envío de muestras y aislamientos (IT-MI-26)** se detallan los requisitos a cumplir para el envío de muestras al Departamento Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos G. Malbrán"- ANLIS.

a. Selección y Obtención de Muestras

Las recomendaciones para la selección y toma de muestra son las siguientes:

1. Seleccionar el sitio anatómico adecuado del cual se va a tomar la muestra.
2. Evitar la contaminación con flora endógena.
3. Tomar un volumen suficiente de muestra que permita la realización de todos los estudios. Un material insuficiente puede dar falsos negativos.
4. Rotular la muestra con el nombre del paciente, número de identificación, origen de la muestra, fecha y hora de la toma.
5. Utilizar un recipiente para el transporte que permita la viabilidad del patógeno, que no pueda sufrir fisuras o roturas y que cumpla con las normas de bioseguridad para el transporte y procesamiento.

Debe confirmarse su vigencia antes de hacer uso de esta versión, por si ha sido modificada.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 2 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

6. En situaciones que requieran un estudio epidemiológico, debe establecerse la necesidad de toma de muestra ambiental, familiar o en animales.

OBSERVACIONES

El Departamento Micología no recibe muestras para diagnóstico de micosis superficiales por ser prácticas disponibles en los laboratorios jurisdiccionales de la Red Nacional de Laboratorios de Micología. Solo se reciben muestras para diagnóstico referencial por metodologías de alta complejidad.

II. OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE LESIONES COMPATIBLES CON MICOSIS SUPERFICIALES

La calidad del diagnóstico de las micosis depende de la calidad y cantidad del material recogido del paciente, de las condiciones de envío, conservación, transporte y procesamiento y de la pericia del micólogo.

Las muestras deben ser representativas, abundantes, libres de contaminantes exógenos o endógenos, y de sustancias que inhiban o alteren la viabilidad de los hongos.

Para asegurar la calidad de la muestra no hay nada mejor que la toma de muestra la realice el micólogo, la inocule en los medios de cultivo, y la procese para la observación microscópica. En caso de no ser posible, se debe entrenar al personal de manera tal que pueda elegir adecuadamente el sitio más típico y activo de la lesión, y obtener la muestra mediante técnicas e instrumental específico para cada caso. De esta forma es posible evitar las contaminaciones por esporas de hongos saprófitos (exógenos) y/o la microbiota de las diferentes áreas del cuerpo humano (endógenas).

Es conveniente recoger los especímenes en recipientes estériles, irrompibles, de tamaño adecuado, y conservarlas a temperatura ambiente.

Si las muestras fueron recogidas en un laboratorio periférico para ser enviadas a otro centro es conveniente adjuntar una pequeña ficha con el tipo de material, características sobresalientes de la lesión, y edad y sexo del paciente.

El paciente debe seguir, en lo posible, una serie de instrucciones detalladas a continuación. Para ello conviene explicarle claramente por qué deben cumplirse esos requisitos y qué sucedería de no hacerlo, de tal modo que no deje de cumplirlos por ningún motivo o pueda informar cuando sucedió algo fuera de lo recomendado.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01
		Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 3 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

a. Elección del método de toma de muestra

MATERIAL	LESIONES	SOSPECHA	TOMA DE MUESTRA
Piel	Múltiples manchas descamativas color pardo o más claras que el color de la piel normal. Generalmente localizadas en el tronco, raramente en cara, cuello, brazos, axilas o muslos. Presentan fluorescencia desde rojiza opaca a amarillo anaranjada con Luz de Wood.	Pitiriasis versicolor	Cinta adhesiva transparente.
	Lesiones húmedas, con alteración de la epidermis, que provocan prurito y ardor, localizadas preferentemente en pequeños y grandes pliegues.	Candidiasis	Raspado y/o hisopado.
	Manchas negras o pardas, únicas o no, localizadas especialmente en la palma de las manos, planta de los pies y raramente en otras zonas del cuerpo.	Tinea negra	Raspado.
	Lesiones inflamatorias con alteraciones de la epidermis (vesículas, descamación) y/o de la dermis (eritema, edema, supuración); generalmente bordes bien definidos, anulares o policíclicos elevados, con área central escamosa y periferia eritematosa que avanza activamente, con o sin vesículas o vesiculopústulas, localizadas en cualquier área del cuerpo o de la cara.	Tinea corporis Tinea cruris (dermatofitosis)	Raspado del borde activo. Si se observa inflamación de los folículos pilosos se tomará muestra del vello por depilación.
	Lesiones localizadas en los pliegues interdigitales, en la planta y/o dorso del pie, consistentes en fisuras de la membrana interdigital de color rojo y bordes blancos, o lesiones hiperqueratósicas pápuloescamosas con escamas furfuráceas que asientan sobre una base engrosada y eritematosa de planta o dorso del pie, con o sin vesículas o pústulas.	Tinea pedis (dermatofitosis)	Raspado de la periferia de la lesión.
Uñas	Uñas endurecidas, engrosadas o no, con surcos, con o sin cambio de color pero con brillo. Sin formación de residuos epidérmicos entre la uña y su lecho. Habitualmente con perionixis inflamatoria, rojiza y dolorosa.	onixis por levaduras.	Raspado. No descontaminar con alcohol antes de recolectar material para el cultivo.
	Uñas endurecidas, engrosadas, con o sin surcos, pero siempre friables y quebradizas, con pérdida del color y brillo natural. Hay formación de detritos epidérmicos caseosos entre la uña y su lecho. La infección generalmente comienza por el borde lateral o distal de la	Tinea unguium (dermatofitosis)	Raspado, recoger el material caseoso.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01
		Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 4 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

	uña. No hay perionixis.		
Cuero cabelludo y áreas pilosas	Presencia de nódulos blancos o blanco-amarillentos, blandos, que rodean el pelo de la región axilar, facial, genital o del cuero cabelludo, aunque preferentemente de barba y bigote.	Piedra blanca	Cortar el pelo con tijera.
	Presencia de nódulos oscuros, duros, de aspecto pétreo, que rodean el tallo del pelo del cuero cabelludo o más raramente el vello púbico o axilar.	Piedra negra	Cortar el pelo con tijera.
	Lesiones escamosas, eritematosas, con pérdida parcial del pelo del cuero cabelludo, con o sin supuración y prurito o lesiones elevadas, fluctuantes y supurativas (Querion) con pérdida de cabello. En todos los casos el cabello se debilita, se quiebra y cae.	Tinea capitis (dermatofitosis)	Depilación y raspado. En caso de Querion punción con jeringa y aguja estéril y realizar además un estudio bacteriológico.

b. Indicaciones previas al paciente

- Suspender la medicación antifúngica interna y/o externa durante un lapso no inferior a las 72 horas antes de efectuar la toma de muestra; de igual modo se suspende el uso de pomadas, talcos, tinturas u otras sustancias que enmascaren la presencia, inhiban o alteren la viabilidad de los hongos.
- Lavar la superficie afectada con agua y jabón blanco no perfumado tres veces por día durante los tres días previos a la toma de muestra.
- Las uñas deben higienizarse además con un cepillo blando y no deben estar pintadas.



c. Preparación del sitio para la toma de muestras:

En el momento de la toma de muestra se desinfecta la zona con alcohol 70° utilizando una gasa estéril. Si se sospecha una infección por levaduras desinfectar con solución fisiológica (SF) ya que estas pueden ser susceptibles a la acción del alcohol.

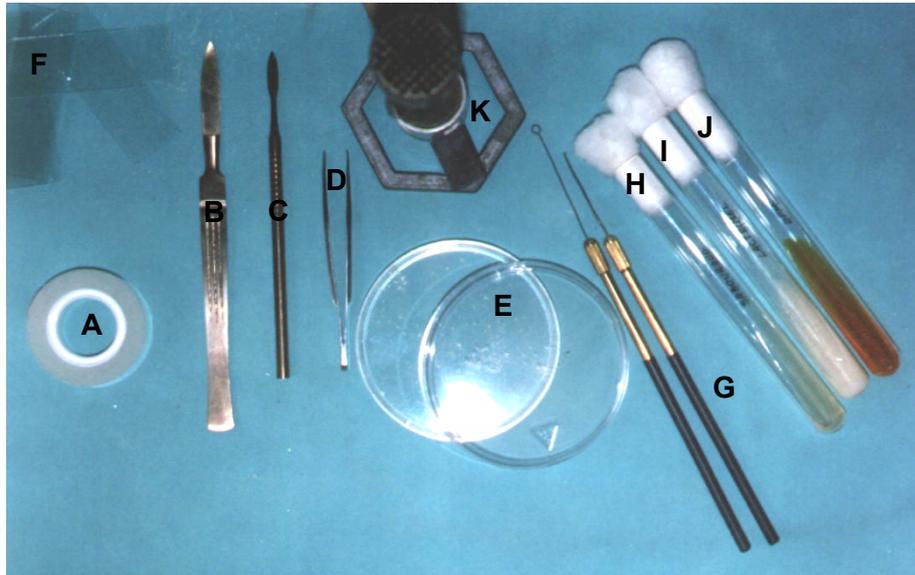
Estas indicaciones están destinadas a garantizar el estudio micológico evitando pérdidas de tiempo y dinero.

En la siguiente foto se observan algunos de los elementos útiles para la toma de muestra

Debe confirmarse su vigencia antes de hacer uso de esta versión, por si ha sido modificada.

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

Siempre es conveniente tener tubos con medios de cultivo en el lugar de la toma de muestra ya que a veces el material es escaso y en esos casos se recomienda realizar directamente la inoculación a los medios de cultivo.



A: cinta adhesiva transparente; **B:** bisturí; **C:** sindesmótomo (bisturí de hoja pequeña, muy útil para penetrar en el lecho subungueal); **D:** pinza de depilar; **E:** placa de Petri estéril; **F:** portaobjetos; **G:** diferentes tipos de ansa; **H:** agar Sabouraud; **I:** agar Lactrimel; **J:** agar DTM; **K:** Mechero.

d. Obtención de muestras

Para todos los métodos de toma de muestra es indispensable el uso de guantes como elemento de protección personal.

Existen tres tipos de técnicas básicas de recolección de especímenes para estudio de micosis superficiales:



A - Cinta adhesiva transparente: esta técnica consiste en cortar un fragmento de cinta adhesiva transparente de aproximadamente 10 cm de largo, que se aplica con la cara engomada sobre la lesión y se presiona, raspando con el borde lateral de la uña, la superficie de la cinta que cubre la zona afectada para que se adhieran las escamas. La cinta se retira obteniéndose así la impronta de la lesión. A continuación se aplica la cinta por los extremos sobre una lámina portaobjetos limpia, rebatiendo los extremos hacia abajo para que no se despegue. La muestra así preparada puede ser remitida al laboratorio. Es conveniente tomar dos o tres improntas y montarlas individualmente.

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos



B - Raspado: se utiliza para todas las lesiones descamativas de la piel glabra (sin pelo), en especial aquellas de gran tamaño. Para obtener el material se raspa el borde activo de la lesión con un bisturí estéril colocado perpendicularmente a la superficie de la piel; si las lesiones son vesiculosas se remueve el techo de las vesículas con el bisturí; cuando la lesión afecta los pliegues interdigitales el material se toma del borde de las lesiones, junto a la piel sana de los dedos o de la planta del pie, evitando las áreas maceradas; si la lesión afecta las uñas se raspa la cara profunda de la superficie afectada, próxima a la región sana de la uña (si la hay), se recogen los residuos epidérmicos depositados entre la lámina de las uñas y el lecho subungueal (se elegirán las zonas friables, de color anormal o hiperqueratósicas). Se debe recoger abundante cantidad de material.



C - Depilación: se utiliza en las lesiones de cuero cabelludo y otras áreas pilosas, y para recoger el vello de la piel cuando el folículo está inflamado (tinea corporis). La muestra se toma con pinza depilatoria estéril aplicada perpendicularmente a la superficie de la piel y siguiendo el sentido del pelo. Se presiona el cuero cabelludo con la pinza y se retira el pelo enfermo (deslucido, debilitado, grisáceo o los muñones cortos) y las escamocostras adyacentes. Se deben extraer aproximadamente 20 pelos enfermos y las escamas circundantes.

OBSERVACIONES

Toda vez que sea posible el material se procesará directamente en el centro de toma de muestra. De no ser así, se recogerán las escamas de piel y uñas y los fragmentos de cabello en una caja de Petri descartable estéril de 5-6 cm de diámetro, o entre dos portaobjetos desengrasados, limpios y estériles; se sellarán los bordes con cinta adhesiva transparente para evitar la pérdida del material, se envolverán en un papel y se enviarán al laboratorio del centro de salud junto con una ficha donde se anotarán los datos del paciente y las características macroscópicas de la lesión. Los envíos no necesitan refrigeración y ningún medio de transporte, excepto que se especifique lo contrario.

Es preferible el transporte inmediato al laboratorio, pero no es imprescindible ya que los hongos que producen micosis superficiales pueden ser aislados de las muestras luego de varias semanas si el recipiente donde se han recolectado no retiene humedad.

Es necesario recalcar una vez más, que las muestras para estudio micológico deben ser abundantes, pues su procesamiento insume gran cantidad de material y siempre es conveniente conservar parte de la misma por si se requiere efectuar estudios adicionales.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 7 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

Se deben enviar al laboratorio no menos 10 a 20 fragmentos de piel, pelo o uñas. Las muestras recogidas por hisopado sólo se procesarán cuando provengan de lesiones húmedas compatibles con candidiasis o de lesiones mucocutáneas

III. OBTENCIÓN DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE MICOSIS SISTÉMICAS

El diagnóstico micológico preciso no depende solamente de la experiencia del laboratorio, ya que si la muestra es de mala calidad, las condiciones de conservación o envío son inadecuadas, o su procesamiento e inoculación en los medios de cultivo se demora, inútiles son los esfuerzos del laboratorio para detectar el agente causal en el examen microscópico o en el cultivo de la misma.

Es indispensable conocer las características de los pacientes y de la patología que presentan, elegir adecuadamente el tipo de muestra a recolectar; determinar el sitio más típico y activo de la lesión, prepararlo en forma apropiada y obtener la muestra mediante técnicas e instrumental específico para cada caso, evitando las contaminaciones. Es conveniente recoger los especímenes en recipientes estériles irrompibles, de cierre hermético y tamaño adecuado, que proporcionen un ambiente húmedo para evitar la desecación de la muestra. Los recipientes de vidrio deben evitarse porque si se rompen o fisuran en el traslado se producen pérdidas o filtraciones del material patológico violando las **normas de bioseguridad**.

Cuando las muestras son de pequeño tamaño como es el caso de las biopsias, pus o exudado de úlceras o abscesos, se debe- agregar 0,5 a 1 ml de solución fisiológica (SF) estéril para evitar su deshidratación.

El agregado de antibiótico a muestras no estériles, para evitar el crecimiento excesivo de bacterias contaminantes, puede hacerse siempre y cuando se esté seguro que la patología no se corresponde con Nocardiosis o Actinomicosis. Las soluciones de antibióticos se agregan a la muestra en cantidades suficientes para lograr una concentración final de 20 U (unidades) de penicilina y 40 U de estreptomina por ml de muestra. Estos pueden ser reemplazados por cloranfenicol a una concentración final de 0,05 mg/ml pero hay que tener en claro que las altas concentraciones de cloranfenicol o gentamicina pueden inhibir el desarrollo de *H. capsulatum*. La conveniencia de agregar antibióticos a la muestra debe ser evaluada por cada laboratorio, nosotros preferimos no utilizarlos porque generalmente el médico no sospecha las infecciones por *Nocardia* y *Actinomyces*, y de agregarlo, perderíamos la única posibilidad de diagnóstico. Una vez recogido el material los recipientes se rotulan y se envían al laboratorio junto con el "Protocolo unificado para la derivación de muestras y cepas", detallado al final del documento Uno de los requisitos básicos para realizar un buen examen micológico, que permita la observación del agente causal en el material y su recuperación, es que el período entre la recolección, el procesamiento y la inoculación en los medios de cultivo no sea mayor de una hora. Períodos de tránsito mayores no sólo ocasionan pérdida de la viabilidad de los hongos patógenos primarios, sino que permiten el crecimiento de microorganismos saprófitos o comensales que eventualmente podrían haber contaminado la muestra, muchos de los cuales por ser patógenos oportunistas pueden inducir a un diagnóstico erróneo.

Debe confirmarse su vigencia antes de hacer uso de esta versión, por si ha sido modificada.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 8 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

El almacenamiento de las muestras a 4 °C por un período máximo de 24 horas, previos al procesamiento; no es conveniente, pero puede hacerse.

Los agentes de micosis sistémicas sobreviven varias horas a 4 °C pero las bacterias y hongos saprófitos de rápido crecimiento pueden enmascararlos con su proliferación. Por ello, cuando no se puede hacer llegar la muestra al laboratorio en un tiempo máximo de una hora es necesario procesarla para su observación microscópica e inocularla en los medios correspondientes, para luego hacerlos llegar al laboratorio debidamente protegidos y empacados.

Cuando la recolección dependa de la colaboración del paciente, es necesario que éste entienda lo que debe hacer y cómo. Es menester que se dedique tiempo para explicar al paciente que esas condiciones e indicaciones no son caprichosas, sino que están orientadas a obtener una buena muestra. Hay que insistir en los riesgos de la contaminación ambiental y la de los gérmenes habituales del área relacionada con la muestra a tomar.

a. Elección de la muestra

Se realiza basándose en el tipo de síndrome que presenta el paciente, su patología de base y las características del mismo. A continuación se detallan las muestras de elección según la localización de la afección. En todos los casos se citan en primer término las muestras más accesibles y que requieren procedimientos más sencillos para su obtención. En algunas oportunidades la muestra más accesible no es la más apta para el estudio micológico, ya sea por las características del paciente o por el carácter oportunista del agente sospechado, en estos casos se recurre a muestras alternativas generalmente recogidas por procedimientos invasivos.

Los estudios serológicos son de mucha utilidad para el diagnóstico de las micosis sistémicas causadas por patógenos primarios y algunas de las originadas por hongos oportunistas, siempre y cuando el paciente tenga una buena respuesta inmunológica y se utilicen métodos y reactivos estandarizados.

A- Síndrome Pulmonar

- a) Sangre para estudio serológico y esputo (tres muestras seriadas).
- b) Esputo inducido, aspirado transtraqueal, lavados bronquiales, lavados broquioalveolares, tejidos tomados por biopsias y líquido pleural.
- c) Sangre entera estéril con EDTA para diagnóstico molecular de histoplasmosis.
- d) Suero para estudios serológicos.

B- Síndrome Mucocutáneo

- a) Raspado de la lesión, exudado o pus aspirado, biopsia de tejidos.
- b) Sangre entera estéril con EDTA para diagnóstico molecular de histoplasmosis.
- c) Suero para estudios serológicos.

Debe confirmarse su vigencia antes de hacer uso de esta versión, por si ha sido modificada.

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

C- Síndrome Meningo-Encefálico

- Líquido cefalorraquídeo o biopsia de tejidos, según el cuadro clínico.
- Sangre entera estéril con EDTA para diagnóstico molecular de histoplasmosis.
- Suero para estudios serológicos.

D- Síndrome Séptico

- Hemocultivo seriado (3 muestras como mínimo).
- Retrocultivos y punta de catéteres.
- Suero para estudios serológicos.
- Sangre entera con EDTA para diagnóstico molecular

Muestras clínica de donde pueden recuperarse agentes de micosis sistémicas

	Microorganismo	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	<i>Coccidioides</i> sp.	<i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<i>Sporothrix</i> ssp.	Complejo <i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Malassezia</i> spp.	<i>Candida albicans</i> y otras levaduras	<i>Trichosporum beigelli</i>	<i>Aspergillus</i> spp.	Zygomycetes	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Pseudoallescheria boydii</i>	<i>Penicillium</i> sp.	Hongos dematiaceos	<i>Pneumocystis jirovecii</i>
Suero			x	x	x		x	x	x	x	x	x					
Sangre entera				x													
Medula ósea				x			x										
SNC			x	x			x		x		x	x		x		x	
Líquidos de punción			x		x									x		x	
Biopsias de áreas estériles		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Punción suprapúbica				x			x		x								
Materiales respiratorios		x	x	x	x	x	x		x*	x	x	x	x	x	x	x	x
Exudados y pus						x					x	x	x	x		x	
Ojos							x		x		x	x	x	x	x	x	
Oídos		x		x					x		x						

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01
		Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 10 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

Material nasofaríngeo (raspado)	X		X	X		X		X			X					
Material de senos paranasales											X	X				
Biopsia de piel y mucosas	X		X	X	X						X	X	X	X	X	X
* de patogenicidad discutida																

Muestras clínicas recomendadas por sitio de infección en pacientes inmunocomprometidos

LOCALIZACIÓN DE LA INFECCIÓN	MUESTRAS DE ELECCIÓN	OBSERVACIONES
ASOCIADAS A CATÉTERES.	Sangre para hemocultivo Retrocultivo cuali y cuantitativo Punta de catéter Cultivo de piel Líquido de Infusión Conexión del catéter con el sistema de infusión Cultivo de Flebitis	Cuando el paciente recibe alimentación lipídica parenteral se deben realizar hemocultivos por lisis-centrifugación e inocular en medios especiales para recuperar especies de <i>Malassezia</i> .
ASOCIADAS A QUEMADURAS	Biopsia del área de la infección de la quemadura y Biopsia del área de tejido sano adyacente a la escara	El examen histológico el método más seguro y confiable tanto para diferenciar la simple colonización microbiana, de tejidos no viables, de la infección invasora de tejido viable, como para establecer el diagnóstico de infección invasora de la quemadura.

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

ASOCIADAS A VÁLVULAS Y PRÓTESIS	Exudado	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tipo de Prótesis</th> <th>Infección</th> <th>Técnicas diagnósticas</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Válvulas cardíacas</td> <td>Endocarditis por válvula protésica, /funguemia.</td> <td>Hemocultivo, cultivo de la válvula y del tejido que rodea la válvula.</td> </tr> <tr> <td>Prótesis óseo articulares</td> <td>Artritis séptica, infección profunda del implante, osteomielitis</td> <td>Cultivo de líquido sinovial o de material óseo.</td> </tr> <tr> <td>Válvulas de derivación de LCR</td> <td>Meningitis, ventriculitis.</td> <td>Aspiración del LCR del reservorio de la derivación.</td> </tr> </tbody> </table>	Tipo de Prótesis	Infección	Técnicas diagnósticas	Válvulas cardíacas	Endocarditis por válvula protésica, /funguemia.	Hemocultivo, cultivo de la válvula y del tejido que rodea la válvula.	Prótesis óseo articulares	Artritis séptica, infección profunda del implante, osteomielitis	Cultivo de líquido sinovial o de material óseo.	Válvulas de derivación de LCR	Meningitis, ventriculitis.	Aspiración del LCR del reservorio de la derivación.
	Tipo de Prótesis		Infección	Técnicas diagnósticas										
	Válvulas cardíacas		Endocarditis por válvula protésica, /funguemia.	Hemocultivo, cultivo de la válvula y del tejido que rodea la válvula.										
	Prótesis óseo articulares		Artritis séptica, infección profunda del implante, osteomielitis	Cultivo de líquido sinovial o de material óseo.										
Válvulas de derivación de LCR	Meningitis, ventriculitis.	Aspiración del LCR del reservorio de la derivación.												
Pus														
Aspirado														
Válvula o prótesis														
Biopsia.														
FUNGUEMIAS O SEPSIS.	Sangre para hemocultivo.	<p>La cantidad de sangre a extraer por punción venosa para cada frasco dependerá de la edad del paciente y el sistema a utilizar. El número de muestras y los intervalos de tiempo entre las tomas dependerá del diagnóstico presuntivo.</p> <p>No deben pedirse hemocultivos para anaerobios en forma rutinaria excepto en pacientes con colecciones abdominales o pélvicas no tratadas, u otras excepcionalidades como fiebre de origen desconocido</p>												

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

<p>TRACTO RESPIRATORIO</p>	<p>Lavado broncoalveolar (BAL o miniBAL) o Cepillado o aspirado endotraqueal o Punción pleural o Biopsia de pulmón a cielo abierto. Sangre para hemocultivo</p>	<p>La biopsia de pulmón es el método de referencia para todos los estudios microbiológicos e histopatológicos porque el espécimen se toma directamente del sitio de infección. Son muestras raramente indicadas en el paciente ventilado y se utilizan cuando no se ha podido llegar al diagnóstico etiológico por métodos menos invasivos.</p> <p>Otras muestras como aspirado endotraqueal, transtraqueal ó traqueal, lavado bronquial, biopsia transbronquial, punción pulmonar, punción transtraqueal , punción pleural y esputo expectorado o inducido son inadecuadas para recuperar hongos causantes de estas infecciones, pero son de utilidad para recuperar bacterias.</p> <p>Esputo: muestra aceptable para bacteriología si al exámen microscópico con 100x se observan menos de 10 células escamosas por campo y más de 25 leucocitos por campo.</p>
<p>LOCALIZACIÓN DE LA INFECCION MUESTRAS DE ELECCIÓN OBSERVACIONES</p>		
<p>TRACTO URINARIO.</p>	<p>Aspirado suprapúbico Sangre para hemocultivo</p>	<p>La orina recogida por punción suprapúbica es el método de referencia para todos los estudios microbiológicos porque el espécimen se toma directamente del sitio de infección.</p> <p>Las muestras de orina recogida por cateterización no son adecuadas para diagnóstico micológico debido a que no permite diferenciar entre contaminación o infección, pero pueden ser utilizadas cuando no sea posible efectuar punción suprapúbica.</p>
<p>PIEL, PARTES BLANDAS y SISTEMA MÚSCULO ESQUELÉTICO (heridas superficiales, profundas, celulitis y abscesos)</p>	<p>Aspirado o Biopsia de tejido o hueso. Sangre para hemocultivo</p>	<p>Los aspirados y muestras de biopsia son los materiales de elección para la investigación de infecciones bacterianas y fúngicas. No son adecuados los especímenes tomados por hisopado.</p> <p>Las muestras deben ser remitidos en sistemas de transporte anaeróbico para estudios bacteriológicos.</p>

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

<p>TRACTO DIGESTIVO</p>	<p>Exudado o Aspirado o Biopsia. Sangre para hemocultivo</p>	
<p>SISTEMA NERVIOSO CENTRAL</p>	<p>Líquido cefalorraquídeo o Aspirado de absceso cerebral o Biopsia de cerebro. Sangre para hemocultivo</p>	
<p>PERITONEAL, ARTICULAR, PERICÁRDICA Y ASCITIS</p>	<p>Líquido peritoneal o Articular o Pericárdico o Ascítico. Sangre para hemocultivo.</p>	<p>Los volúmenes aconsejados de líquidos de punción para el cultivo son de 10 o mas ml. <i>A mayor volumen de muestra de líquidos de punción mayor posibilidad de recuperación del microorganismo en el cultivo</i></p>

b. Indicaciones previas al paciente. (Preparación del sitio para la toma de muestras)

En el caso de estudios serológicos se suspende el uso de sustancias que modifican la respuesta inmunitaria normal del paciente, durante los 15 a 20 días previos a la toma de muestra; de no ser posible se deberá informar al laboratorio respecto a la medicación que recibía el paciente en el momento de la toma de muestra.

En el momento de la toma de muestra de lesiones externas se lava la superficie afectada con agua y jabón no perfumado, si las lesiones son internas se lava la superficie a punzar con agua y jabón y luego se desinfecta con alcohol yodado o alcohol 70°. Cuando el jabón y/o el alcohol están contraindicados la higiene se efectúa con SF estéril utilizando una gasa o lienzo limpio y hervido (no usar algodón). Si no se cuenta con SF se puede utilizar en su reemplazo un litro de agua hervida con una cucharada de té colmada de sal fina, el agua se debe hervir con la sal en un recipiente con tapa, luego de enfriada se quita la tapa y se usa inmediatamente

c. Obtención de las muestras

La técnica a seguir en cada uno de los casos ha sido ordenada alfabéticamente para facilitar su localización y simplificar el uso de este manual.

Recordar que las muestras deben ser lo más abundantes posible y se debe conservar el material por si se requieren estudios accesorios.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 14 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

Los distintos tipos de muestra se agrupan en la siguiente tabla:

Código	Muestra
1	Abscesos
2	Biopsias
3	Catéteres y material protésico
4	Espujo y secreciones respiratorias
5	Gomas y adenopatías micóticas
6	Lesiones ulcerosas, vegetantes o tumorales (piel y mucosa)
7	Líquido cefalorraquídeo
8	Líquido pleural, ascítico (peritoneal), pericárdico, sinovial y otros líquidos de punción
9	Médula ósea
10	Muestras de cavidad oral, esófago y otorrinolaringológicas
11	Muestras de Quemaduras, heridas superficiales y profundas
12	Muestras de Tejidos
13	Muestras de Tejidos fijadas
14	Muestras oculares
15	Orina
16	Sangre para hemocultivo
17	Sangre para PCR
18	Suero para estudios serológicos

A continuación se describe el procedimiento para la recolección de cada muestra y condiciones de envío al Departamento.

1-Abscesos:

Abscesos cerrados: la muestra se toma por punción con jeringa y aguja estériles, se trasvasa a un recipiente estéril tapa a rosca y se envía inmediatamente al laboratorio (refrigerada).

Abscesos fistulizados: se drena el pus que se recoge asépticamente en un recipiente estéril colocado en el borde de la lesión. Se envía refrigerado y de inmediato al laboratorio.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 15 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

Aspirado de Absceso cerebral y de órganos internos: Los aspirados deben ser tomados por el médico especialista en el quirófano y son transferidos a un recipiente estéril tapa a rosca y se envía inmediatamente al laboratorio (refrigerado).

En todos los casos se agrega 0,5 a 1 ml de SF estéril si el material es escaso. Generalmente es preferible hacer extirpación-biopsia de la lesión como se indica a continuación.

2-Biopsias:

Se extrae asépticamente el tejido de la lesión, incluyendo la pared y el centro de la misma. El material así obtenido se divide en dos porciones una de las cuales se fija con formol al 10% y se remite al laboratorio de anatomía patológica, y la otra se coloca en un recipiente estéril y se envía de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada).

Biopsia de cerebro	Deben ser tomadas por el médico especialista en el quirófano 1. Obtener la muestra de la biopsia 2. Colocar en un envase estéril con tapa a rosca, hermético, con 0,5 a 1 ml de solución fisiológica, no bacteriostática. 3. Enviar de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada).
Biopsia de pulmón a cielo abierto	1. Obtener, si es posible, un trozo de 1 a 3 cm de tejido. Si la lesión es grande o si hay múltiples lesiones, tomar diferentes muestras de los sitios representativos. 2. Colocar en un envase estéril con 0,5 a 1 ml de solución fisiológica, no bacteriostática. 3. Enviar de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada).
Biopsia transbronquial	1. Obtener la muestra de la biopsia a través del canal del broncoscopio (<i>ver lavado broncoalveolar</i>) 4. Colocar en un envase estéril con tapa a rosca, hermético, con 0,5 a 1 ml de solución fisiológica, no bacteriostática. 5. Enviar de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada).
Biopsias de piel.	1. Desinfectar la superficie igual que en el caso de las heridas superficiales. 2. Tomar una muestra de 3 a 4 mm con punch. 3. Colocar en un envase estéril con tapa a rosca, hermético, con 0,5 a 1 ml de solución fisiológica, no bacteriostática. 4. Enviar de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada).
Biopsias de Material óseo	1. Obtener muestra de hueso por cirugía. 2. Colocar en un envase estéril con tapa a rosca, hermético, con 0,5 a 1 ml de solución fisiológica, no bacteriostática. 3. Enviar de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada)..
Biopsia esofágica	Esta muestra es muy poco frecuente y generalmente in necesaria ya que el cepillado esofágico es muy sensible para el diagnóstico de esofagitis candidiásica. No permite diferenciar colonización de infección.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01
		Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 16 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

En todos los casos es necesario aclarar en el envase la muestra correspondiente a cada estudio para evitar confusiones y pérdida del material.

3-Catéteres y material protésico:

Es recolectado asépticamente por el médico en un envase estéril con tapa a rosca, de cierre hermético. Se envía inmediatamente al laboratorio.

Catéteres intravasculares	<ol style="list-style-type: none"> 1. Desinfectar con alcohol la zona cutánea alrededor de la inserción del catéter 2. Cortar asépticamente 5 cm del extremo distal 3. Colocar en un envase estéril con tapa a rosca, hermético, con 0,5 a 1 ml de solución fisiológica, no bacteriostática. 4. Enviar de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada).
Catéteres de diálisis peritoneal	<ol style="list-style-type: none"> 5. Desinfectar con alcohol la zona cutánea alrededor de la inserción del catéter 6. Extraer el catéter, seleccionar y cortar el segmento subcutáneo y el extremo distal e introducirlos en contenedores estériles con tapa a rosca, herméticos, con 0,5 a 1 ml de solución fisiológica, no bacteriostática. 7. Enviar de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada).
Material protésico	<p>Deben ser tomadas por el médico especialista en el quirófano</p> <ol style="list-style-type: none"> 8. Extraer el material 9. Colocar en un envase estéril con tapa a rosca, hermético, con 0,5 a 1 ml de solución fisiológica, no bacteriostática. 10. Enviar de inmediato al laboratorio de micología (refrigerada).

Para infecciones asociadas a catéteres suelen recogerse además las siguientes muestras.

Hemocultivos	<p>Se extraerán dos muestras de hemocultivos de sangre periférica, de venas diferentes a la que está colocada el catéter.</p> <p>Si el paciente esté recibiendo antibióticos, se tomarán cuando la concentración de la ó las drogas sea menor (valle).</p>
Retrocultivo y Hemocultivo cuantitativo	<p>Es un método útil en caso de catéteres que no puedan ser retirados.</p> <p>Se deben tomar 5 ml de sangre a través del catéter (retrocultivo) y la misma cantidad de una vena periférica diferente, para cultivo cuantitativo.</p> <p>Colocarlos en tubos estériles separados, con una gota de anticoagulante.</p>
Cultivo de piel	<p>Hisopar la piel que rodea el orificio por donde penetra el catéter. Enviar inmediatamente al laboratorio en tubo seco estéril.</p>
Líquido de Infusión	<p>Desinfectar la punta de la tubuladura con yodo povidona.</p> <p>Tomar por punción aproximadamente 15 ml de la infusión que se está administrando.</p> <p>Enviar de inmediato en tubo estéril.</p>

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01
		Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 17 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

Conexión del catéter con el sistema de infusión	Realizar el hisopado de la parte interna del dispositivo que conecta el catéter con el sistema de perfusión. Enviar de inmediato en tubo seco estéril.
Cultivo de Flebitis	Realizar la punción espirativa de la vena con jeringa y aguja estéril. Recoger en un tubo estéril.

4-Espujo y secreciones respiratorias:

Antes de la toma de muestra es imprescindible convencer al paciente de la importancia de una buena higiene bucal previa, aclararle que debe quitarse las prótesis dentarias (sí las usa) antes de cepillarse los dientes con dentífrico; luego debe realizar buches y gárgaras con agua hervida y carbonatada, recogiendo una buena expectoración profunda en un recipiente estéril descartable de boca ancha.

Espujo: La expectoración debe ser la primera de la mañana recogida en ayunas, y enviada rápidamente al laboratorio, refrigerada y acompañada de una muestra de sangre para estudios serológicos, y de la ficha de resumen de datos.

Para un adecuado estudio micológico es necesario procesar tres muestras seriadas, recogidas en días sucesivos, siguiendo las instrucciones dadas con anterioridad. Por ningún motivo las tres muestras se recogerán en el mismo recipiente. Cada muestra se enviará inmediatamente después de su recolección.

Es conveniente explicarle al paciente que las muestras de saliva o de secreciones nasales no sirven para el estudio, y que se necesita una muestra de secreción proveniente de pulmón para poder hacer el diagnóstico de su enfermedad. Tampoco deberá abrir el recipiente hasta el momento de la expectoración.

Si el paciente está internado el recipiente no le será entregado hasta el momento de la recolección.

Debe evitarse

*	La demora innecesaria en el envío
*	La saliva excesiva o recolección de secreciones nasales
*	La deshidratación de las muestras
*	El crecimiento excesivo de los contaminantes exógenos y endógenos.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 18 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

Espito espectorado	<ol style="list-style-type: none"> 1. En caso que el enfermo use prótesis dentaria, se debe proceder a retirarla antes de efectuar la higiene bucal utilizando un cepillo de dientes y dentífrico (cepillar la mucosa bucal, lengua y encías) y luego efectuar gargaras con agua, previo a la recolección de la muestra. 2. Instruir al paciente que no debe expectorar saliva o moco dentro del recipiente. Recoger la muestra resultante de una expectoración profunda en un recipiente estéril. <p>Nota: La muestra debe obtenerse tras una expectoración profunda preferentemente matinal, mediante tos o fisioterapia respiratoria (se recomienda el lavado previo de la boca con solución salina y evitar que la expectoración se contamine con secreciones nasales o saliva).</p>
Espito inducido.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cepillar la mucosa bucal, lengua y encías, previamente a la recolección de la muestra. 2. Enjuagar la boca del paciente con agua. 3. Usando un nebulizador ultrasónico, hacer que el paciente inhale aproximadamente de 20 a 30 ml de una solución 3 a 10% de NaCl 0.85%. 4. Recoger el esputo inducido en recipiente estéril <p>Nota: Se recomienda como alternativa el esputo recolectado de expectoración espontánea en el caso que no sea posible una expectoración espontánea Su valor diagnóstico equivale al esputo por expectoración espontánea.</p>

Secreciones bronquiales recogidas por lavado o bronco-aspiración. La muestra de elección es el **Lavado broncoalveolar:** recoge asépticamente, en recipiente estéril con tapa a rosca y se envía rápidamente y en refrigeración al laboratorio

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

<p>Lavado bronquial (LB) y lavado broncoalveolar (BAL)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Pasar el broncoscopio a través de la nariz o la boca en pacientes no entubados ó a través de la vía del tubo endotraqueal en pacientes ventilados. <input type="checkbox"/> Enclavar la punta del broncoscopio en un segmento bronquial (para el lavado bronquial) ó en un subsegmento bronquial (para lavado broncoalveolar). <ol style="list-style-type: none"> 1. Inyectar solución fisiológica 0.85% NaCl estéril, no bacteriostática, generalmente en volúmenes de 5 a 20 ml con jeringa, a través del canal del broncoscopio. 2. Succionar suavemente la solución fisiológica y colocar dentro de un recipiente estéril, antes de administrar la siguiente alícuota, (50 al 75% de la solución instilada es recuperada en el efluente del lavado). 3. Mantener separadas las alícuotas obtenidas de sitios diferentes y combinar sólo aquellas procedentes del mismo sitio para cultivo y examen directo. <p>Nota: En el LB la muestra procede del árbol bronquial superior y no es representativa del territorio alveolar ni bronquiolar y puede estar contaminada por secreciones del tracto respiratorio superior en el paciente no intubado, siendo su valor diagnóstico similar al del esputo. Sólo está indicado cuando el volumen del BAL es insuficiente y existe la sospecha de una infección fúngica pulmonar por patógenos primarios. En el enfermo intubado tiene el mismo valor diagnóstico que el aspirado traqueal.</p>
<p>Lavado broncoalveolar protegido (BAL-protégido) (Cepillo envainado o protegido)</p>	<p>Con el objeto de evitar la contaminación orofaríngea, se desarrolló un sistema doble catéter, con cánula telescópica y un tapón distal de polietilenglicol (ver lavado broncoalveolar)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Enclavado en el sitio indicado, se avanza la cánula interna, el tapón distal es expulsado en el lumen de las vías aéreas y se avanza el cepillo para tomar las secreciones de bronquiólos terminales (aproximadamente 0.01-0.001 ml). 2. Se retrae el cepillo protegido por la cánula interna y se lo retira a través del canal de succión. 3. Puede enviarse la cánula externa. También puede extraerse el cepillo protegido, avanzando previamente la cánula interna, cortar y colocar en 1 ml de solución fisiológica.
<p>Exudado y lavado nasofaríngeo</p>	<ol style="list-style-type: none"> 5. Aspirar el moco por vía per o retronasal catéter (K30- K33) o con un hisopo estéril. <p>Nota: la muestra obtenida corresponde al tracto respiratorio superior y de ser positiva solamente indicará colonización de las vías aéreas superiores.</p>

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 20 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

Aspirado traqueal (AT)	<ol style="list-style-type: none"> 6. Introducir una sonda de aspiración a través del tubo endotraqueal o de la traqueotomía 7. Instilar de una pequeña cantidad de solución salina estéril (\pm 5 ml) si la muestra es muy viscosa. 8. Succionar las secreciones respiratorias. <p>Nota: Se puede considerar la alternativa al esputo en el paciente intubado y su valor diagnóstico es muy similar</p>
Punción pleural	<ol style="list-style-type: none"> 1. Limpiar el lugar donde se va a realizar la punción con alcohol y desinfectar con una solución de yodo-povidona al 10%. 2. El médico realiza asépticamente la aspiración percutánea con jeringa para obtener la muestra pleural. 3. Expulsar el aire de la jeringa e inocular la muestra dentro de un sistema de transporte anaeróbico. Transportar pus ó líquido adicional en un vial estéril con tapa a rosca.
Punción pulmonar percutánea o transtorácica	<p>Aunque es una muestra con alta especificidad, tiene baja sensibilidad, y la técnica no está libre de contraindicaciones (neumotórax, hemorragia), por lo que su empleo se limita al estudio de infiltrados pulmonares densos de localización periférica, con gran componente cavitario y / o consolidación, como puede ser el caso de algunas neumonías fúngicas.</p>
Biopsia transbronquial	<p>Está indicada para estudios histológicos. Aunque el pequeño tamaño de las biopsias obtenidas tiene sensibilidad de la muestra, debe tenerse presente su gran especificidad y valor diagnóstico de seguridad de las micosis invasoras.</p>
Biopsia pleural	<p>Las muestras se emplean para estudio histológico o para el diagnóstico de una posible paquipleuritis tuberculosa, siendo habitualmente poco útil en Micología.</p>
Líquido pleural (LP)	<p>El empiema suele presentarse como complicación de una neumonía bacteriana o tuberculosa, pero no debe descartarse la implicancia de un hongo que, en procesos neumónicos crónicos, puede invadir la cavidad pleural o introducirse en ella a través de un neumotórax o una fístula broncopleural.</p>

5-Gomas y adenopatías micóticas

Se hace una extirpación por biopsia de la lesión y se procede como se indica en el ítem correspondiente.

6-Lesiones ulcerosas, vegetantes o tumorales (piel y mucosa)

En lo posible se practica una biopsia, caso contrario se raspa la zona afectada con bisturí, ansa o lanceta estéril. Se recoge el material en un recipiente estéril, agregándole unas gotas de SF estéril y se envía de inmediato al laboratorio, refrigerada.

Debe confirmarse su vigencia antes de hacer uso de esta versión, por si ha sido modificada.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 21 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

7-Líquido ceforraquídeo

Es recolectado asépticamente por el médico en un tubo estéril con tapa a rosca. Se envía inmediatamente al laboratorio. **ES CONVENIENTE NO REFRIGERAR.**

<p>Punción lumbar:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Limpiar el sitio de punción con solución antiséptica y alcohol. 2. Insertar aguja con estilete en el espacio intervertebral L3-L4, L4-L5 ó L5-S1. Cuando se alcanza el espacio subaracnoideo . remover el estilete y recoger el líquido. 3. Drenar el líquido lentamente en tubos estériles plásticos con tapa a rosca. 4. Extraer un volumen mínimo de 3 ml/tubo, enviar rápidamente al laboratorio de Microbiología. 5. Extraer también sangre para hemocultivo. <p>NOTA Se requieren tres tubos para realizar el estudio fisicoquímico, hematológico y microbiológico. El primer tubo obtenido se envía para el análisis fisicoquímico, el segundo para el estudio microbiológico y el último es enviado al laboratorio de hematología.</p>

8-Líquido pleural, ascítico (peritoneal), pericárdico, sinovial y otros líquidos de punción

Se recogen asépticamente en un recipiente estéril que se envía rápidamente al laboratorio, refrigerado.

Punción pleural y Otros líquidos de punción	<ol style="list-style-type: none"> 4. Limpiar el lugar donde se va a realizar la punción con alcohol y desinfectar con una solución de yodo-povidona al 10%. 5. El médico realiza asépticamente la aspiración percutánea con jeringa para obtener 5 ml de la muestra. 6. Expulsar el aire de la jeringa e inocular la muestra dentro de un envase estéril, hermético con tapa a rosca
--	--

9-Médula ósea

El material se recoge por punción, con heparina como anticoagulante, se coloca en un tubo estéril con tapa a rosca y se envía de inmediato al laboratorio, refrigerado.

El método de elección es la **Lisis-Centrifugación**, en cuyo caso la muestra se recoge en un tubo con una solución lisante (saponina-polianetolsulfonato de sodio en solución fisiológica), en las proporciones que se indican a continuación, de modo de alcanzar una concentración final de saponina al 5%. Realizar en el momento de la toma de muestra un extendido en un portaobjeto para realizar la tinción de Giemsa.

Adultos: 9 ml en 1 ml de solución lisante

Niños: 1 a 5 ml en 0,5 ml de solución lisante

Debe confirmarse su vigencia antes de hacer uso de esta versión, por si ha sido modificada.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 22 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

Neonatos: 0.5 a 1 ml en 0,5 ml de solución lisante.

Nota: El aspirado de médula ósea, por punción esternal o de cresta ilíaca, es una de las mejores muestras para el diagnóstico de histoplasmosis diseminada.

10- Muestras de cavidad oral, esófago y otorrinolaringológicas

La toma de muestras se hará antes de administrar antifúngicos. Se recogen asépticamente, con hisopo. Que se introduce en solución fisiológica estéril en recipiente estéril con tapa a rosca y se envían rápidamente y en refrigeración al laboratorio. Deben procesarse antes de las 2 horas. Para **las muestras recogidas por biopsia, proceder como se indica en el ítem correspondiente.**

Cavidad oral	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cepillar la mucosa bucal, lengua y encías, previamente a la recolección de la muestra. 2. Enjuagar la boca del paciente con agua o solución salina esteril. 3. Recoger las secreciones y el material de las lesiones pseudomembranosas con un hisopo estéril y se coloca en tubo estéril con tapa a rosca, se agregan unas gotas de SF, todo con estricta asepsia, y se envía inmediatamente al laboratorio. <p>NOTA1: Cuando sea posible se practicará biopsia y se procederá como se indica en el ítem correspondiente.</p> <p>NOTA2: Lesiones bucales o faríngeas (Candidiasis): antes de la toma de muestra se efectúa una higiene profunda de los dientes con cepillo y dentífrico, y de la boca con buches y gárgaras con agua carbonatada hervida y enfriada. Se toma el material con un hisopo que se coloca en un tubo con tapa a rosca</p>
Cepillado esofágico	<ol style="list-style-type: none"> 4. Cepillar la mucosa, preferentemente las placas blanco-amarillentas o seudo membranosas si las hubiere, mediante escobillón guiado por endoscopia para recolectar el material. 5. Colocar el material en envase estéril con tapa a rosca y se agregan unas gotas de SF, todo con estricta asepsia 6. Posteriormente frotar el cepillo por la superficie de uno o varios portaobjetos limpios y estériles. 7. Enviar inmediatamente al laboratorio.
Rinosinuales	<p>Debe tomarse con hisopo o torunda de algodón de la mucosa nasofaríngea, mediante aspiración o biopsias durante una intervención quirúrgica. También son muestras útiles los exudados nasales, así como el contenido y tejido de los senos afectados. Deben colocarse en frasco estéril, con solución fisiológica estéril.</p>
Muestras óticas	<p>Deben efectuarse bajo visión directa con otoscopio y el material se extrae con una cucharita o cureta. También pueden emplearse hisopos humedecidos en solución fisiológica. Pero los resultados son menos satisfactorios.</p>

11- Muestras de Quemaduras, Heridas superficiales y profundas.

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

<p>Biopsia de tejido quemado</p>	<p>Se realizarán dos tomas biopsia del mismo tamaño, una de ellas deberá tomarse del área que muestre hallazgos más marcados de la infección de la quemadura y la otra de áreas de tejido sano adyacente a la escara. En ambos casos la muestra lenticular debe ser de aproximadamente 500mg.</p> <p>Si para este procedimiento se va a usar anestesia local, el agente anestésico se inyecta en la periferia del sitio de biopsia para evitar la distorsión de la morfología del tejido.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Limpiar superficie con alcohol 70% isopropílico. 2. Obtención de las dos biopsias con bisturí, la correspondiente al tejido infectado deberá incluir tejido subcutáneo viable bajo la quemadura. 3. Transporte en tubo estéril. <p>La mitad de la muestra debe ser cultivada buscando identificar el agente y su sensibilidad a los antibióticos. La otra mitad es procesada para el estudio histopatológico utilizando una técnica por congelamiento en menos de 30 minutos o entre 3 o 4 horas por otros métodos.</p>
<p>Heridas superficiales.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. El aspirado con jeringa es el método aconsejado en lugar del hisopado. 2. Herida abierta: lavar con solución fisiológica secar con gasa sin friccionar y tomar muestra. 3. Herida cerrada: desinfección de piel con alcohol al 70% o con solución de yodo povidona al 10%. Dejar secar el antiséptico antes de tomar la muestra. 4. Usando jeringa, aspirar de la parte más profunda de la lesión. Si hay vesículas, tomar líquido y material de la base de la herida. 5. Si la aspiración inicial falla, inyectar solución fisiológica estéril, no bacteriostática en forma subcutánea. 6. Repetir el aspirado. 7. Si el material obtenido en la jeringa es muy escaso, enjuagar la aguja y la jeringa, aspirando caldo y haciéndolo circular a través de las mismas.
<p>Heridas profundas y abscesos</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Desinfectar la superficie igual que en el caso anterior. 2. Se recomienda debridar la herida dejando al descubierto el lecho de la misma. 3. Aspirar la porción más profunda de la lesión, evitando la contaminación de la parte superficial de la herida. Si la muestra es tomada durante una cirugía, en la que se realiza el drenado del absceso, una parte de la pared del absceso también debe ser enviado para cultivo. 4. La muestra debe ser enviada en sistema especial para transporte con atmósfera anaerobia. (ver Anexo de Transporte de bacterias anerobias).

12- Muestras de Tejidos

Las muestras de tejidos se obtienen mediante cirugía, biopsia percutánea o autopsia. Realizar la biopsia aplicando las máximas medidas de asepsia. Introducir el tejido biopsiado en un recipiente estéril de tapa a rosca con solución salina estéril y enviar al laboratorio rápidamente.

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01
		Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 24 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

13-Muestras de Tejidos fijadas

Las muestras de tejidos deben fijarse en formalina y embeberse en parafina. Envíelas por mensajería a temperatura ambiente para entrega en 12 horas. Durante el verano o en climas cálidos envíe las muestras de tejidos en empaque refrigerado. Si tiene preguntas relacionadas con la estabilidad de estas muestras o sobre requisitos de empaque, solicite asistencia llamando al Departamento al número xxxx

14-Muestras Oculares

Todas las muestras deben (en lo posible) inocularse en el momento, de no ser posible enviarlas al laboratorio en envase estéril con tapa a rosca.

Exudado conjuntival	Con un hisopo estéril, de algodón o alginato humedecido en solución salina estéril frotar la zona lesionada suavemente e introducirlo en medio de transporte. Repetir la toma de muestra en el ojo contralateral con otro hisopo. Si se dispone de medios de cultivo es preferible inocularlos en el momento de la toma de muestra
Raspado corneal	Obtener exudado conjuntival de cada ojo por separado. Aplicar un colirio anestésico. Raspar la superficie de la lesión con un ansa de Kimura (ansa de platino ultrafina, flexible, de punta roma que puede enfriarse rápido si se esteriliza a la llama (este procedimiento debe realizarla el oftalmólogo, controlando la toma de muestra con microscopio o con lámpara de hendidura Si la lesión es purulenta conviene tomar la muestra con hisopo, si es profunda se puede hacer una incisión con microbisturí. Si la lesión está mal definida se puede pasar un hilo quirúrgico por el área infectada y luego usarlo para inocular los medios.
Fluidos y aspirados oculares	En los casos de endoftalmitis y celulitis orbitaria, las muestras deben ser recolectadas por el oftalmólogo en el quirófano, mediante punción aspiración o vitrectomía y controladas por microscopía. Colocarlas en recipiente estéril, pero conviene inocular la muestra en los medios de cultivo directamente
Conductos lacrimales	Con hisopo húmedo en solución salina estéril, recoger el material purulento presionando los párpados y el saco lacrimal.
Lentes de contacto	Frotar en hisopo por la superficie de contacto corneal de cada lente

15-Orina

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

<p>Punción suprapúbica</p>	<p>Es útil para determinar infecciones urinarias en adultos, en los casos en que se sospecha la infección, pero los resultados de laboratorio son dudosos y el diagnóstico es crítico. También es de utilidad para pacientes pediátricos cuando es dificultoso obtener una orina libre de contaminaciones. Es la única muestra que permite el diagnóstico de una candidiasis.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Antes de la punción, el paciente deberá retener orina hasta llenar la vejiga. 2. Desinfectar la piel suprapúbica que cubre la vejiga urinaria. 3. El médico hará la punción, a través de la epidermis, por encima de la sínfisis pubiana. 4. Aspirar la orina de la vejiga usando la técnica de aspiración con aguja. <p>El espécimen obtenido por punción suprapúbica debe ser remitido para investigación de bacterias anaerobias en sistemas de transporte anaeróbico.</p>
<p>Por cateterización</p>	<p>Previo a la cateterización, el paciente deberá ingerir líquido y retener orina hasta llenar la vejiga.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Limpiar el orificio uretral del paciente (y en las mujeres, el vestíbulo vaginal) con jabón, y enjuagar cuidadosamente el área con agua. 2. Usando una técnica estéril, introducir el catéter dentro de la vejiga. 3. Descartar los primeros 15 a 30 ml de orina. 4. Recoger en un recipiente estéril una muestra de la parte media o final del flujo de orina. <p>Cualquier procedimiento que implique una cateterización, deberá ser realizado utilizando una técnica escrupulosamente aséptica para evitar contaminaciones.</p>
<p>NOTA: recoger preferentemente la primera orina de la mañana o en su defecto con tres horas de retención. En pacientes con imposibilidad de retención es válida cualquier muestra.</p>	

16-Sangre para Hemocultivo

Se extraen 10 ml de sangre estérilmente y se trasvasa a un tubo estéril con tapa a rosca, conteniendo heparina como anticoagulante se agita por rotación cuidando de no mojar el tapón y se envía al laboratorio sin refrigerar, lo antes posible. No se debe inclinar el tubo durante el envío.

El método de elección es la **Lisis-Centrifugación**, en cuyo caso la sangre extraída se recoge en un tubo con una solución lisante (saponina-polianetolsulfonato de sodio en solución fisiológica), en las proporciones que se indican a continuación, de modo de alcanzar una concentración final de saponina al 5%.

Adultos: 9 ml en 1 ml de solución lisante

Niños: 1 a 5 ml en 0,5 ml de solución lisante

Neonatos: 0.5 a 1 ml en 0,5 ml de solución lisante.

Debe confirmarse su vigencia antes de hacer uso de esta versión, por si ha sido modificada.

Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos

Atención: Observar las precauciones universales de bioseguridad. Usar guantes y protección ocular para la toma de muestras sangre.

Procedimiento

Técnica aséptica. Instrucciones:

1. Lavarse las manos con agua y jabón y secarse con gasa estéril o toalla descartable
2. Lavar la piel del paciente con agua y jabón y secar con gasa estéril (opcional: desinfectar con alcohol 70°)
3. Colocar el lazo, palpar la vena a punzar
4. Desinfectar la piel con iodo povidona, con movimientos circulares del centro hacia afuera.

Toma de muestra:

1. El operador antes de comenzar la tarea deberá colocarse camisolín, barbijo y guantes
 2. Punzar la vena seleccionada y extraer sangre, y colocar en un tubo con la solución Lisante.
- SI PIERDE LA VENA DEBE DESINFECTARSE NUEVAMENTE LA PIEL. UNA VEZ SELECCIONADA LA NUEVA VENA USAR JERINGA Y AGUJAS NUEVAS
3. Inclinar el tubo antes de colocar la sangre para evitar reflujo
 4. Inocular la sangre y homogeneizar por rotación para evitar la coagulación
 5. Descartar el material utilizado, desinfectar sector de trabajo con lavandina, quitarse guantes y barbijo y colocar todo en la bolsa de residuos
 6. Rotular la muestra y colocarla en la bolsa de transporte
 7. Remitir al laboratorio.

Nota Se extraerán dos muestras de hemocultivos de sangre periférica, de venas diferentes a la que está colocada el catéter. Si el paciente tiene un catéter es conveniente hacer una extracción de sangre a través de este (retrocultivo) para descartar este como foco séptico. Si el paciente esté recibiendo antibióticos, se tomarán cuando la concentración de la ó las drogas sea menor (valle). En pacientes hemodinámicamente comprometidos, neutropénicos, meningitis aguda, neumonía que se interna, epiglotitis, las dos muestras deben extraerse de inmediato para iniciar tratamiento (separadas por minutos por distintas áreas de venopuntura).

17-Sangre para PCR:

Se extraen 5 ml de sangre estérilmente y se trasvasa 2,5 ml en cada uno de dos tubos que contiene 250 µl de EDTA-K₂ como anticoagulante. Se agita por rotación cuidando que no queden micro coágulos y se envía al laboratorio sin refrigerar, lo antes posible. En caso de enviarlo al día siguiente mantener refrigerado entre 5-10 °C (heladera).

18-Suero para Estudios serológicos

Se extraen 10 ml de sangre del paciente en ayunas, se trasvasa a un tubo seco **tapa a rosca** estéril, evitando la hemólisis, deje por lo menos por una hora a temperatura ambiente para que coagule, luego

	Instructivo	Código IT-MI-27 Versión 01 Fecha de revisión: 17/04/2018 Página 27 de 27
Recomendaciones para la obtención de muestras y cultivos fúngicos		

separe el suero por centrifugación, envase el suero en un vial plástico estéril para transporte y envíe al laboratorio refrigerado. Se puede agregar unas gotas de merthiolate 1:10000.

Si su envío se demora más de una semana se conserva a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Nota: Las muestras hemolizadas, ictericas o lipémicas invalidan algunas pruebas.

4.- Documento de origen

Gestión de las muestras y resultados del Diagnóstico Referencial(POE-MI-700), Revisión de solicitudes y contratos para diagnóstico referencial(PE-MI-02)

5.- Registros

Autor del documento: Nadia Bueno
Revisor:Nadia Bueno, Graciela Davel
Autorizador: Graciela Davel