

# TOMA DE MUESTRAS EN MICROBIOLOGÍA

JUAN CARLOS RODRÍGUEZ  
S. MICROBIOLOGÍA



# CONCEPTOS GENERALES



- Toda la información depende de la calidad de la muestra recibida
- Es clave la comunicación con Microbiología: hay que aclarar las dudas **ANTES DE REALIZAR EL PROCEDIMIENTO**



# TOMA DE MUESTRAS GENERALIDADES

- Usar siempre RECIPIENTES ESTÉRILES recién abiertos
- **NO AÑADIR FORMOL** ni otros compuestos desinfectantes
- NO ENVIAR GASAS
- Tomar mayor cantidad de muestra posible
- Utilizar los medios de transporte adecuados a cada estudio
- LLEVAR LO MÁS RÁPIDAMENTE POSIBLE a Microbiología



# HORARIOS DE MICROBIOLOGÍA



- **El horario de recogida de muestras del laboratorio de Microbiología es:**
  - De lunes a viernes: 8-21 h
  - Sábados, domingos y festivos : 8-14 h.
  - En otros horarios: Dejar en el Laboratorio de Urgencias
  
- **Teléfonos de contacto:**
  - Recepción de muestras: 913876
  - Busca residentes: 445435
  - Teléfono Jefe de Sección: 445042

# CONSERVACIÓN



TODA MUESTRA QUE SE OBTENGA DE UN LUGAR HABITUALMENTE ESTÉRIL DEBE MANTENERSE A TEMPERATURA AMBIENTE

TODA MUESTRA QUE PUEDA ESTAR CONTAMINADA CON BACTERIAS DEL MICROBIOMA DEBE CONSERVARSE EN NEVERA

- Orinas
- Vaginales
- Heces
- Respiratorio
- Orofaringeo
- Piel

# HECES



- **Estudio de detección de antígenos** (Giardia, Cryptosporidium, Entamoeba):  
Se enviará **un frasco estéril sin conservante**

Frasco estéril 100-150 ml  
con rosca

Solicitar almacén

Código LOGIS:

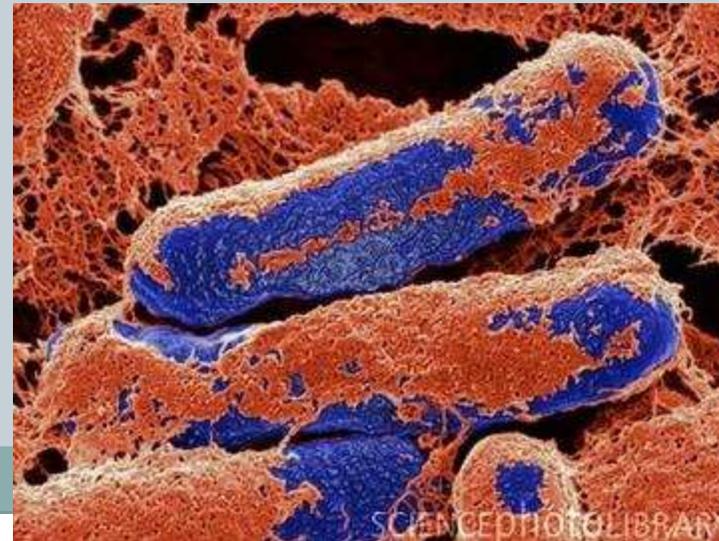
912107



# CLOSTRIDIUM DIFFICILE



- No se diagnostica mediante coprocultivo
- Solicitar detección de antígeno (GDH)
  - Si negativo: Se descarta la infección
  - Si positivo:
    - Toxina negativa: Cepa poco virulenta
    - Toxina positiva: Cepa virulenta
    - Toxina binaria: Genotipo especialmente virulento



- **Estudio parasitológico mediante microscopia sin helmintos:** Debe constar de **tres muestras recogidas en PARASEP en días sucesivos**, ya que la eliminación de parásitos puede ser intermitente. Los recipientes deben tener conservante

Frasco de recogida de heces para parásitos

Solicitar almacén

Código LOGIS:

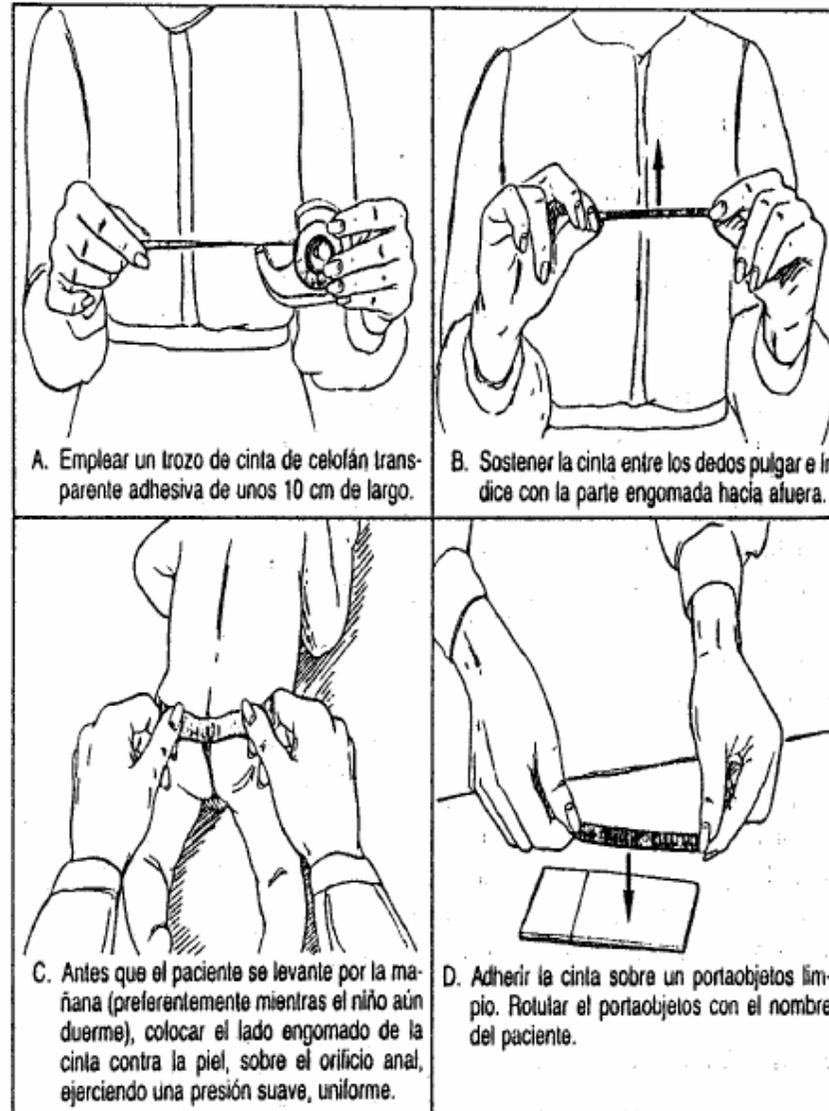
Frasco recogida muestras PARASEP

911620



- **Estudio parasitológico con microscopia y estudio de helmintos:** Debe constar de tres muestras en recipientes estériles sin conservante recogidas en días sucesivos y tres muestras recogidas en PARASEP (**cada día se recogerán dos muestras, una en recipientes estéril y otra en PARASEP**), ya que la eliminación de parásitos puede ser intermitente. Deben reenviarse ambos recipientes e indicarse expresamente en el volante

Figura 1: Técnica de Graham



# HEMOCULTIVOS



- Desinfectar la piel antes de pinchar
- No extraer los hemocultivos a través de catéter porque hay más riesgo de contaminación
- Un hemocultivo contaminado evita el crecimiento del verdadero patógeno
- Llevar inmediatamente a Microbiología. Si no fuera posible, mantener a temperatura ambiente

# HEMOCULTIVOS



**Table I-1a. Recommended Volumes of Blood for Culture in Pediatric Patients (Blood Culture Set May Use Only 1 Bottle)**

Weight of Patient (kg)	Total Patient Blood Volume (mL)	Recommended Volume of Blood for Culture (mL)		Total Volume for Culture (mL)	% of Total Blood Volume
		Culture Set No. 1	Culture Set No. 2		
≤1	50–99	2	...	2	4
1.1–2	100–200	2	2	4	4
2.1–12.7	>200	4	2	6	3
12.8–36.3	>800	10	10	20	2.5
>36.3	>2200	20–30	20–30	40–60	1.8–2.7

When 10 mL of blood or less is collected, it should be inoculated into a single aerobic blood culture bottle.



# DIAGNÓSTICO BACTERIEMIA ASOCIADA A CATETER

✓ Extracción de de  
sangre a través de  
cada una de las  
conexiones del catéter  
y de una vena

✓ Los frascos deben  
transportarse al  
laboratorio  
inmediatamente

**Muy importante: transporte inmediato al laboratorio**

**HEMOCULTIVO EN PORTADOR DE CATÉTER**

Sección de Microbiología y Parasitología

ETIQUETA PACIENTE

ESPACIO PARA  
MICROBIOLOGÍA

Dir. Ora		SERVICIO
FECHA DE LA TOMA	HORA DE LA TOMA	ANTIBIÓTICOS SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>

1.-VIA PERIFÉRICA ( x 1 ) :

Aerobio

Anaerobio

OBSERVACIONES

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

2.-VIA CENTRAL ( x 3 ) :

Aerobio

Anaerobio

Luz/localización

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

Etiqueta frasco

TIPO DE CATÉTER CENTRAL (Marcar tipo de catéter y nº luces del catéter):

		Nº LUCES			
CVC	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4
C. ARTERIAL	<input type="checkbox"/>	1	2	3	4
HICKMAN	<input type="checkbox"/>	1	2		
PORT-A-CATH	<input type="checkbox"/>	1			
C.HEMODIÁLISIS	<input type="checkbox"/>	1	2	3	

## HEMOCULTIVO VIA PERIFERICA

ANALISIS: HEMOCULTIVO VIA CENTRAL 1

RESULTADO DEFINITIVO:

NUMERO DE HORAS a las que se POSITIVIZA el hemocultivo: 12

ANTIBIOGRAMA/S MICROORGANISMO/S AISLADO/S:

(Segun criterios actualizados del CLSI)

(1) *Staphylococcus hominis*

El TIEMPO de CRECIMIENTO en la toma por CATETER con respecto a la toma por via PERIFERICA es SUPERIOR a 120 minutos.

Compatible con bacteriemia asociada a cateter.



**Bacteriemia  
asociada a  
cateter**

## HEMOCULTIVO VIA PERIFERICA

**Bacteriemia  
no asociada  
a cateter**



ANALISIS: HEMOCULTIVO VIA CENTRAL 1

RESULTADO DEFINITIVO:

NUMERO DE HORAS a las que se POSITIVIZA el hemocultivo: 12

ANTIBIOGRAMA/S MICROORGANISMO/S AISLADO/S:

(Segun criterios actualizados del CLSI)

(1) *Staphylococcus hominis*

El TIEMPO de CRECIMIENTO en la toma por CATETER con respecto a la toma por via PERIFERICA es INFERIOR a 120 minutos.

Probablemente no se trate de bacteriemia asociada a cateter

# LÍQUIDOS ESTÉRILES más de 2 ml)



- L. Pleural
- L. peritoneal/ascítico
- L. Articular/sinovial
- L. Pericárdico

Frascos de hemocultivos  
para microorganismos  
aerobios y anaerobios

Solicitar almacen

Código LOGIS:

Aerobio (tapón gris)

974435.007

Anaerobio (tapón  
naranja)

974004.015



Tubo plástico estéril 10cc

Solicitar almacen

Código LOGIS:

912317



# LÍQUIDOS ESTÉRILES: menos de 2 ml



- L. Pleural
- L. peritoneal/ascítico
- L. Articular/sinovial
- L. Pericárdico

Transporte anaerobios  
en muestras líquidas

Solicitar almacén

Código LOGIS:

Port-A-Germ

974004.077



# BIOPSIAS



NO AÑADIR NUNCA FORMOL NI OTRO DESINFECTANTE

NO ENVIAR GASAS

CUBRIR CON SUERO SALINO ESTÉRIL

Frasco estéril 100-150 ml  
con rosca

Solicitar almacén

Código LOGIS:

912107



# HERIDAS SUPERFICIALES



PUNCIÓN MEJOR QUE TORUNDA  
NO TOCAR LA PIEL DE ALREDEDOR

Torunda con medio de transporte

Solicitar almacén

Código LOGIS:

Escobillon con medio  
Amies 912385



# HERIDAS PROFUNDAS, ABSCESOS, ETC

SIEMPRE CON JERINGA

SI HAY MUCHA CANTIDAD: HEMOCULTIVO

Transporte anaerobios  
en muestras líquidas

Solicitar almacén

Código LOGIS:

Port-A-Germ

974004.077



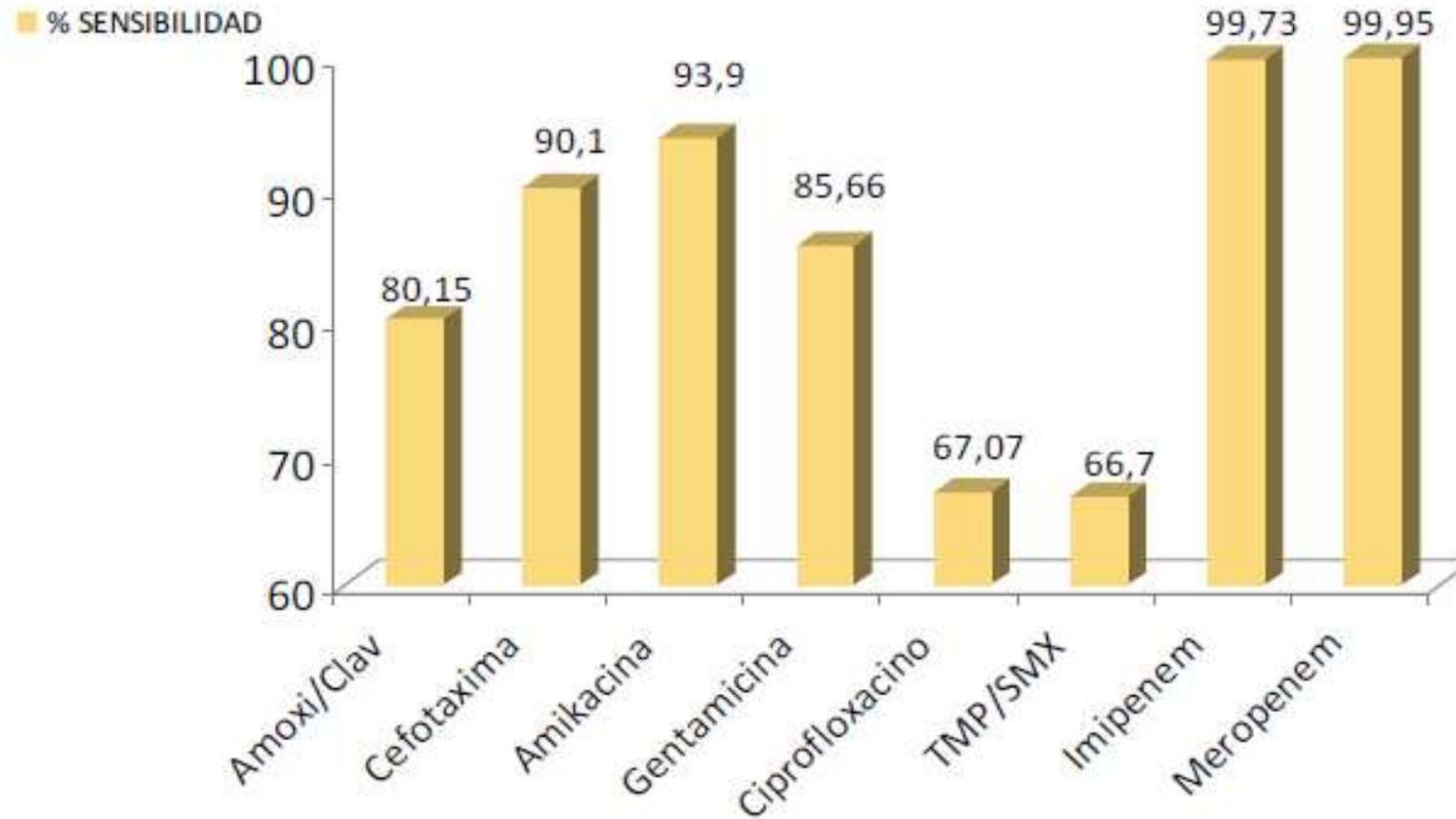
# RESISTENCIAS EN NUESTRO MEDIO

JUAN CARLOS RODRÍGUEZ  
S. MICROBIOLOGÍA



# *Escherichia coli*

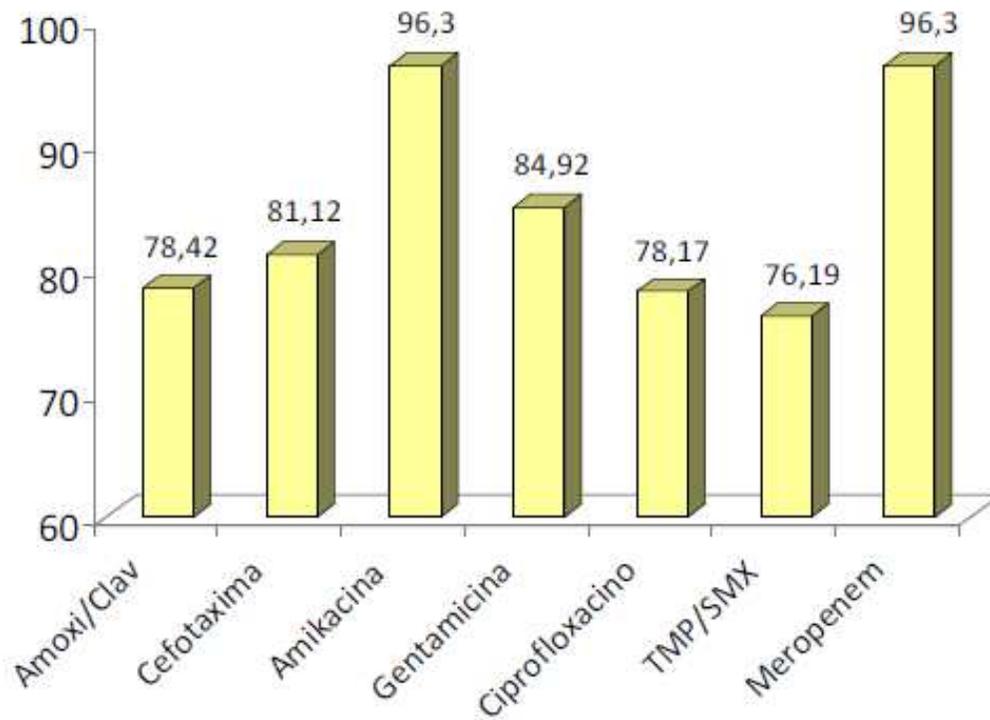
(n= 2507 aislados; 1895 pacientes)



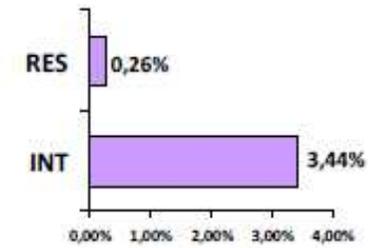
# *Klebsiella spp*

(n= 1089 aislados; 745 pacientes)

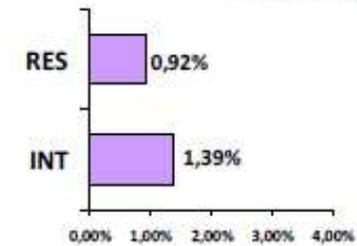
% SENSIBILIDAD



AMIKACINA



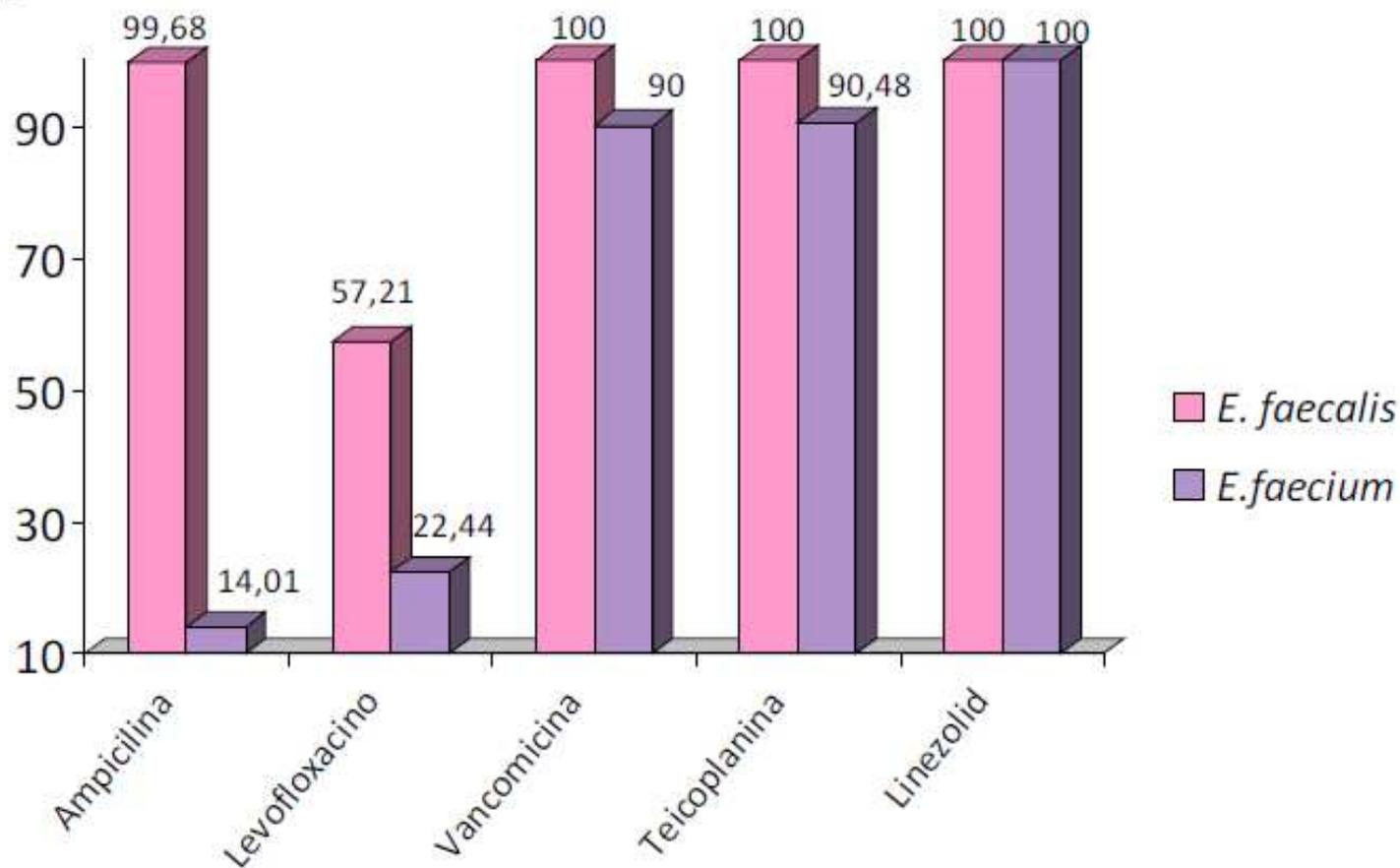
TIGECICLINA



# *E.faecalis* y *E.faecium*

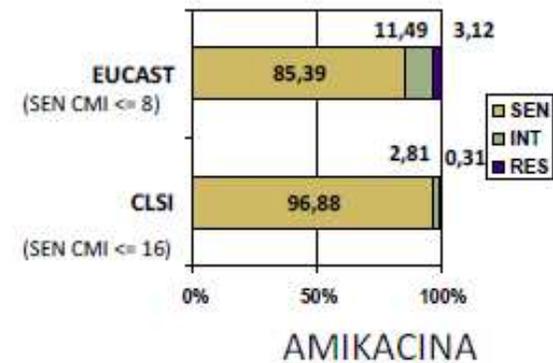
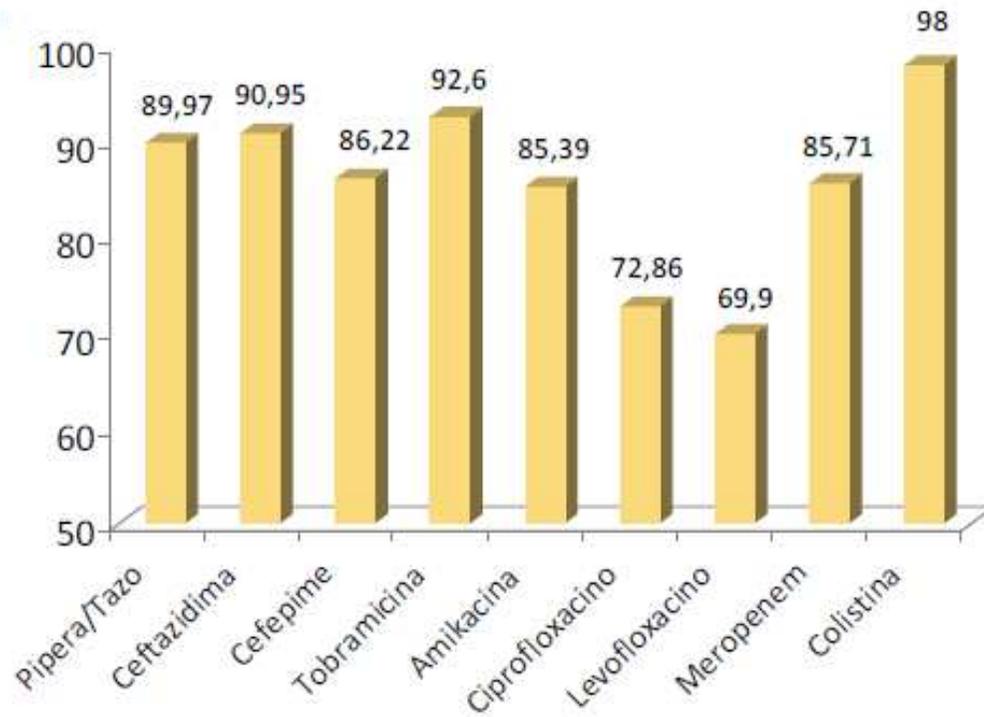
(n= 850 aislados; 636 pacientes / n= 237 aislados; 176 pacientes)

% SENSIBILIDAD



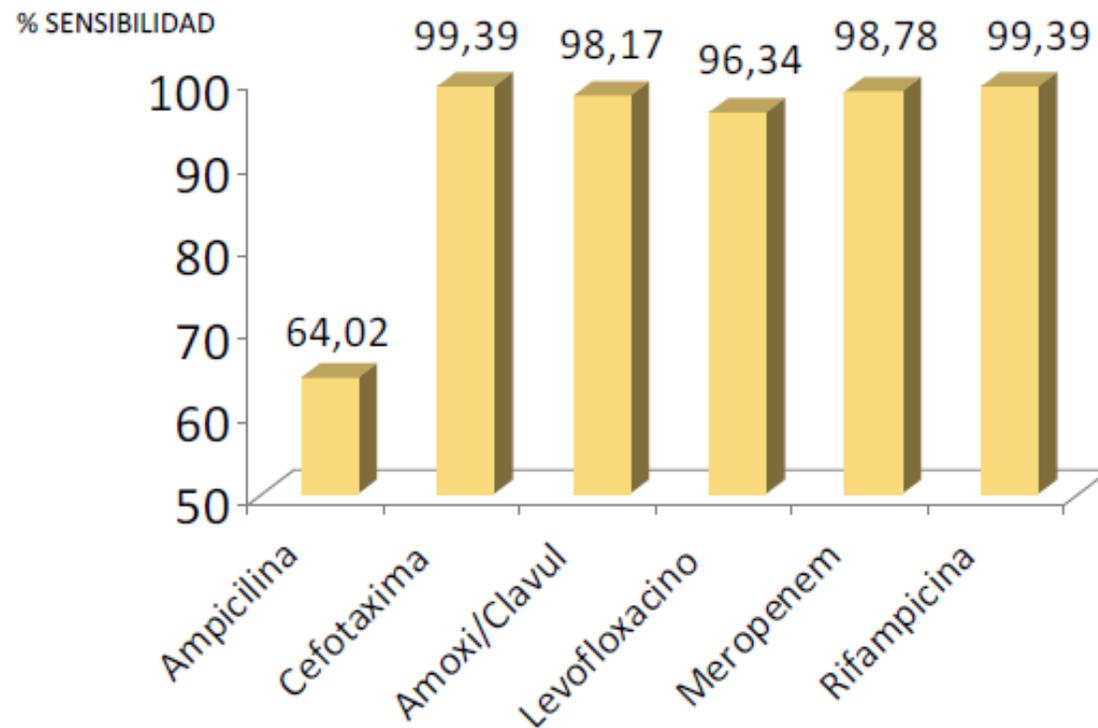
# *Pseudomonas spp*

(n= 982 aislados; 585 pacientes)



# *H. influenzae*

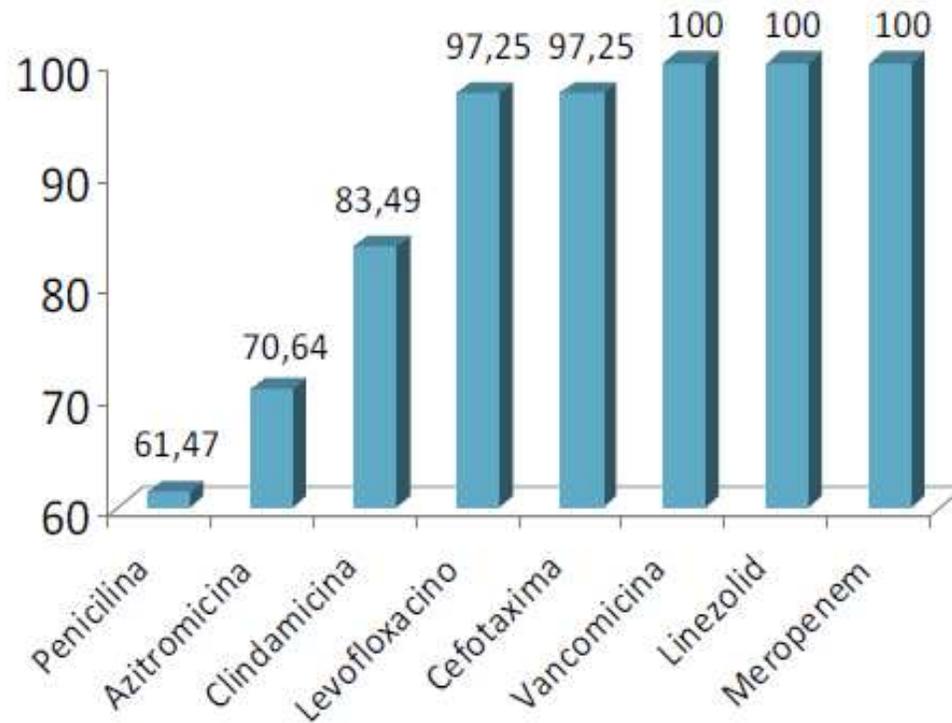
(n= 183 aislados; 167 pacientes)



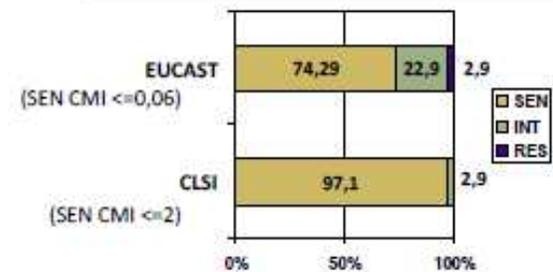
# *S. pneumoniae*

(n= 118 aislados; 109 pacientes)

% SENSIBILIDAD



SANGRE n= 35 aislados



PENICILINA

(en muestras de no meningitis)

# *Escherichia coli* BLEE

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>E.coli</i>	n= 2507	Pacientes con <i>E.coli</i>	n= 1895
Aislados* de <i>E.coli</i> BLEE	n= 303	Pacientes* con <i>E.coli</i> BLEE	n= 195

(\* en muestras clínicas)

*E.coli* productor de BLEE en el HGUA en 2016: **10,3 %**

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>E.coli</i> <u>en sangre</u>	n= 258	Pacientes con <i>E.coli</i> en sangre	n= 243
Aislados de <i>E.coli</i> BLEE en sangre	n= 35	Pacientes con <i>E.coli</i> BLEE en sangre	n= 29

*E.coli* BLEE en **SANGRE** en el HGUA en 2016: **11,9 %**



**11,6 %**  
2015

# *Klebsiella pneumoniae* BLEE

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>K.pneumoniae</i>	n= 903	Pacientes con <i>K.pneumoniae</i>	n= 657
Aislados* de <i>K.pneumoniae</i> BLEE	n= 219	Pacientes* con <i>K.pneumoniae</i> BLEE	n= 113

(\* en muestras clínicas)

*K.pneumoniae* productor de BLEE en el HGUA en 2016: **17,2 %**

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>K.pneum.</i> <u>en sangre</u>	n= 89	Pacientes con <i>K.pneum.</i> en sangre	n= 83
Aislados de <i>K.pneum.</i> BLEE en sangre	n= 20	Ptes con <i>K.pneum.</i> BLEE en sangre	n= 16

*K.pneumoniae* BLEE en **SANGRE** en el HGUA en 2016: **19,3 %**



**20,3 %**  
2015

# *Klebsiella pneumoniae* RES carbapenem

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>K.pneumoniae</i>	n= 903	Pacientes con <i>K.pneumoniae</i>	n= 657
		Pacientes* con <i>K.pneumoniae</i> RES	n= 25
			(* en muestras clínicas)

*K.pneumoniae* RES a carbapenems en el HGUA en 2016: **3,8 %**

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>K.pneum.</i> <u>en sangre</u>	n= 89	Pacientes con <i>K.pneum.</i> en sangre	n= 83
		Ptes con <i>K.pneum.</i> RES en sangre	n= 8

*K.pneumoniae* RES en **SANGRE** en el HGUA en 2016: **9,6 %**



**2,2 %**  
2015

# *Pseudomonas aeruginosa* RES carbapenem

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>P.aeruginosa</i>	n= 892	Pacientes con <i>P.aeruginosa</i>	n= 601
		Pacientes* con <i>P.aeruginosa</i> RES	n= 102

(\*en muestras clínicas)

*P.aeruginosa* RES a carbapenems en el HGUA en 2016: **17 %**

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de <i>P.aeruginosa</i> <u>en sangre</u>	n= 39	Pacientes con <i>P.aerugin</i> en sangre	n= 33
		Ptes con <i>P.aerugin</i> RES en sangre	n= 7

*P.aeruginosa* RES en **SANGRE** en el HGUA en 2016: **21 %**



# Staphylococcus aureus meticilin RES

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de *S.aureus* n= 979

Pacientes con *S.aureus* n= 666

Pacientes\* con SAMR n= 92

(\*en muestras clínicas)

**SAMR en el HGUA en 2016:**

**13,8 %**

## Procedencia HGU Alicante:

Aislados de *S.aureus* en sangre n= 65

Pacientes con *S.aureus* en sangre n= 58

Pacientes con SAMR en sangre n= 3

**SAMR en SANGRE en el HGUA en 2016:**

**5 %**



**25,3 %**  
2015

# CARTERA DE SERVICIOS

ANÁLISIS	MUESTRA	VALORES REFERENCIA	TIEMPO DE RESPUESTA	OBSERVACIONES
<b>Detección de anticuerpos</b>				
<b>Virus Epstein Barr</b> - VCA Ig G - VCA Ig M - Anticuerpos heterófilos	Suero	Infección aguda: IgM positiva	Menos de 24 horas.	Urgencia: Menos de 2 horas
<b>Toxoplasma gondii</b> - Ig M - Ig G - Avidéz de IgG	Suero	Infección aguda: IgM positiva. Confirmación con positividad de IgA y baja avidéz de IgG	Cribado (IgG, IgM). Menos de 24 horas	Si Ig M es positiva, se ampliará el estudio a Ig A y avidéz de IgG
<b>Sífilis</b> - RPR - Ig G (ELISA) - IgM (ELISA)	Suero LCR	Confirmación de diagnóstico: Ig G positiva	RPR e Ig G: Menos de 24 horas IgM: Menos de 7 días	Todo RPR positivo se confirmará automáticamente
<b>Mycoplasma pneumoniae</b> - Ig G - Ig M	Suero	Infección aguda: IgM positiva	Menos de 24 horas	
<b>Brucella</b> - Rosa de Bengala - ELISA IgG - ELISA IgM Inmunocaptura	Suero	Infección: Presencia de anticuerpos	Rosa Bengala: Menos de 24 horas ELISA: Menos de 24 horas Inmunocaptura: Menos de 7 días	Urgencia: Rosa de Bengala en menos de 2 horas
<b>Salmonella</b> Aglutinaciones:	Suero	Prueba poco sensible y específica	Menos de una semana	Se recomienda sustituir por cultivo
<b>Virus herpes 1 y 2</b> - Ig G - Ig M	Suero	Infección aguda: IgM positiva	Menos de 24 horas	No diferencia infección entre tipo 1 y 2
<b>Citomegalovirus</b> - Ig G - Ig M	Suero	Infección aguda: IgM positiva	Menos de 24 horas	Es poco útil para estudios de reactivación en inmunodeprimidos
<b>Legionella</b> - Ig G - Ig M	Suero	Infección aguda: Positividad de IgM	Menos de 24 horas	Diagnóstico rápido: Detección de Ag en orina Confirmación: Cultivo en medios específicos
<b>Hidatidosis</b> - IgG	Suero	Infección: Presencia de Ac	Menos de 24 horas	Puede ampliar al estudio de subclases de IgG (centro de referencia)

# MANUAL DE TOMA DE MUESTRAS



HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE  
MICROBIOLOGÍA  
**MANUAL DE TOMA DE MUESTRAS**

# RESUMEN: NUEVAS TÉCNICAS



- MALDITOF: Permite identificar bacterias de forma rápida a partir de hemocultivo positivo
- PCR SARM: Identifica la especie y la resistencia a meticilina
- PCR carbapenemasas: Detecta resistencia a carbapenems en enterobacterias
- AB rápido: Permite detectar resistencia a CTX y MER en BGN
- PCR tuberculosis: Identificación y resistencia a fármacos de 1ª y de 2ª línea
- PCR virus respiratorios: Gripe, VRS y Bordetella
- PCR Helicobacter: Detección y estudio de resistencias

# FUTURO



## PCR MULTIPLEX PARA MENINGITIS/ENCEFALITIS

- *Escherichia coli*
- *Haemophilus influenzae*
- *Listeria*
- *Neisseria meningitidis*
- *S. agalactiae*
- *S. pneumoniae*
- CMV
- Herpes 1,2 y 6
- Enterovirus/parechovirus
- Varicella



# CONCLUSIONES

