

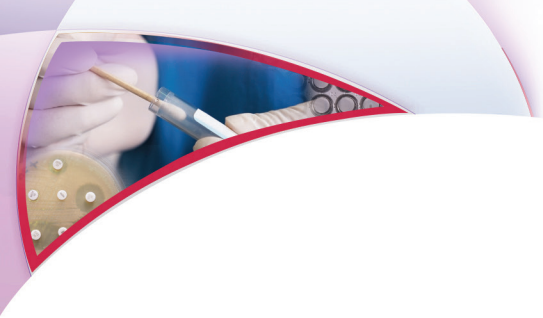


Manual de toma de muestras para análisis microbiológico



ALCALDÍA MAYOR
DE BOGOTÁ D.C.
SECRETARÍA DE SALUD

BOGOTÁ
HUMANANA



Gustavo Francisco Petro Urrego

Alcalde Mayor de Bogotá

Mauricio Alberto Bustamante García

Secretario Distrital de Salud

Jaime Hernán Urrego Rodríguez

Subsecretario de Salud Pública

María Patricia González Cuellar

Dirección Epidemiología, Análisis y
Gestión de Políticas de Salud Colectiva

Luz Adriana Zuluaga Salazar

Subdirección de Vigilancia en Salud Pública



AUTORES

AURA LUCIA LEAL CASTRO,

MD. Especialista en Microbiología Clínica, MSc. Control de Infecciones. Profesor Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Fundación Santa fe de Bogotá.

ROCÍO BOCANEGRA RODRÍGUEZ.

Bacterióloga. Magíster en Ciencias Biológicas (candidata)
Pontificia Universidad Javeriana.

IVAN LEONARDO MOJICA F. MD. MBA.

Especialista en Patología Anatómica y Clínica.

JOSE LEONARDO CELY ANDRADE.

Ps. Especialista en Epidemiología, MSc Salud Pública.
Universidad Nacional de Colombia.

COAUTORES

CLAUDIA LILIANA GUERRERO OTERO,
Odontóloga, Especialista en Gerencia y Auditoría
en Calidad de Servicios de Salud – Especialista en
Epidemiología

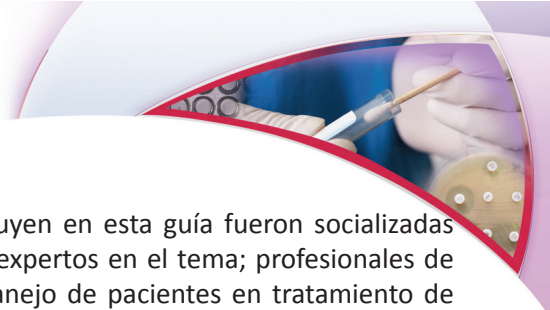
ISABEL CRISTINA RODRIGUEZ CORTES,
Ingeniera biomédica MSC(c) Efectividad Clínica

MARLEY ANDREA AVILA PUENTES,
Bacterióloga Epidemióloga

MARIA DEL SOCORRO CHALÁ,
Bacterióloga. Magíster en microbiología. Especialista en
Epidemiología. Profesional Especializado Laboratorio de
Salud Pública, Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D.C.

NATALIA CHARRY.
Microbióloga industrial- Microbiología de alimentos del
laboratorio de salud pública

STELLA VANEGAS,
Enfermera, Especialista en Cuidado Intensivo
Coordinadora comité prevención de infecciones
Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá

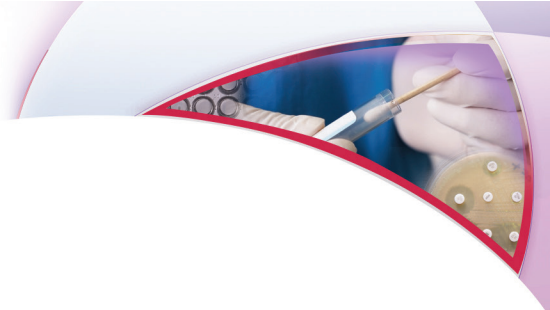


Las recomendaciones que se incluyen en esta guía fueron socializadas y consensuadas por un grupo de expertos en el tema; profesionales de la salud con experiencia en el manejo de pacientes en tratamiento de hemodiálisis, miembros de sociedades científicas.

Durante el desarrollo del consenso, posterior a la presentación de la evidencia científica de mayor relevancia que soporta cada una de las recomendaciones, se sometió a aprobación por parte del grupo de expertos cada una de estas para ser incluidas en el texto.

Participaron del consenso:

Aura Lucia Leal Castro	Médico, especialista en microbiología clínica, magíster en control de infecciones Grupo para la Resistencia Bacteriana (Grebo) Profesora asociada, Universidad Nacional de Colombia
Rocío Bocanegra Rodríguez.	Bacterióloga. Magíster en Ciencias Biológicas (candidata) Pontificia Universidad Javeriana.
Jose Leonardo. Cely A	Ps. Especialista en Epidemiología, MSc Salud Pública. Universidad Nacional de Colombia.
Iván Leonardo Mojica F.	MD. MBA. Especialista en Patología anatómica y clínica.
Gerson Arias	MD Infectólogo Internista Jefe servicio de Infectología, Hospital santa clara Infectólogo Fundación Clínica Shaio
Jaime Patiño	MD Infectólogo Internista Hospital Valle de Lili
Laura Mendoza	MD Pediatra, Especialista en infectología pediátrica (candidata) Universidad del Bosque
Martha Isabel Garzón	Bacterióloga Microbióloga - Hospital El Tunal
Maria del Pilar Torres	Coordinadora de Epidemiología - Clínica Palermo.
Stella Vanegas Morales	Enfermera, especialista en cuidado intensivo Coordinadora comité prevención de infecciones Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá
Adriana Merchán	Enfermera Licenciada, Epidemióloga Fundación Santa Fe de Bogotá
Edna Lucia Velandia	Profesional especializado Vigilancia epidemiológica de infecciones Instituto Nacional de Cancerología - E.S.E.
Liliana Guerrero	Odontóloga, Especialista en gerencia y auditoria en calidad de servicios de salud Especialista en epidemiología
Maria del Socorro Chalá	Bacterióloga. Magíster en microbiología. Especialista en epidemiología Profesional especializado Laboratorio de Salud Pública Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D.C.
Andrea Avila	Bacterióloga Epidemióloga Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D.C
Hugo Díez O	Profesor Titular- Facultad de Ciencias, P.U.J



**SECRETARÍA DISTRITAL DE SALUD- FUNDACIÓN CIC SALUD.
CONVENIO DE ASOCIACIÓN 1792- 2013.**

**MANUAL DE TOMA DE MUESTRAS PARA
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

**BOGOTA.
2015.**

Contenido

Introducción

		12
1.	ASPECTOS GENERALES	14
1.1	Recomendaciones para la toma de muestras	15
1.2	Solicitud de estudio	15
1.3	Precauciones de bioseguridad	16
1.4	Preparación de elementos	16
1.5	Equipo de asepsia y antisepsia	16
1.6	Identificación de muestras	17
1.7	Condiciones generales de almacenamiento y transporte	17
1.8	Criterios de aceptabilidad o rechazo de muestras	17
2.	MUESTRAS CLÍNICAS	19
2.1	Procedimiento para la toma de muestras para identificación de infecciones del torrente sanguíneo	19
2.1.1.	Objetivo y principios generales	19
2.1.2.	Definiciones	19
2.1.3.	Condiciones para la toma de la muestra	20
2.1.4.	Condiciones de Bioseguridad	22
2.1.5.	Instrucciones para la toma de muestras del torrente sanguíneo	22
2.1.5.1.	Toma de muestra de hemocultivos periféricos	22
2.1.5.2.	Toma de muestra de hemocultivos a través de catéter central	24
2.1.5.3.	Cultivo punta del catéter venoso central	26
2.1.6.	Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio	27
2.2	Procedimiento para la toma de muestras de Orina	28
2.2.1	Objetivo y principios generales	28
2.2.2	Definiciones	29
2.2.3	Condiciones para la toma de la muestra	29
2.2.4	Precauciones de Bioseguridad	30
2.2.5	Instrucciones para la toma de la muestra	30
2.2.5.1.	Toma de muestras por micción espontánea	30

2.2.5.2.	Toma de muestra obtenida a través de catéter transuretral	31
2.2.5.3.	Toma de muestra de orina utilizando bolsa de recolección	33
2.2.5.4.	Toma de muestra de orina por punción suprapúbica	34
2.2.6	Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio	36
2.3	Procedimiento para la toma de muestras del tracto respiratorio superior e inferior	37
2.3.1	Objetivo y principios generales	37
2.3.2	Definiciones	38
2.3.3	Condiciones para la toma de la muestra	38
2.3.4	Precauciones de bioseguridad	38
2.3.5	Instrucciones para la toma de muestras del tracto respiratorio	38
2.3.5.1.	Toma de muestra a través de hisopado de fosas nasales	39
2.3.5.2	Toma de muestra obtenida a través de hisopado nasofaríngeo	40
2.3.5.3.	Toma de la muestra obtenida a través de aspirado nasofaríngeo	41
2.3.5.4.	Toma de muestra a través de hisopado faríngeo	42
2.3.5.5.	Toma de muestra de esputo	43
2.3.5.6.	Toma de muestras de esputo inducido	44
2.3.5.7.	Toma de muestras de aspirado traqueal	45
2.3.5.8.	Toma de muestras de lavado broncoalveolar, cepillado bronquial y lavado bronquial	46
2.3.6.	Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio	47
2.4	Procedimiento para la toma de muestras de líquidos corporales estériles	49
2.4.1	Objetivo y principios generales	49
2.4.2	Definiciones	49
2.4.3	Condiciones para la toma de la muestra	49
2.4.4	Precauciones de bioseguridad	49

2.4.5.1.	Toma de muestra de efusiones de la cavidad pleural (Toracocentesis)	50
2.4.5.2.	Toma de muestra de efusiones de la cavidad peritoneal (Paracentesis)	51
2.4.5.3.	Toma de muestra de efusiones de las cavidades articulares (Artrocentesis)	53
2.4.5.4.	Toma de muestra de la cavidad pericárdica (Pericardiocentesis).	55
2.4.5.5.	Toma de muestra de Líquido Cefalorraquídeo (Punción Lumbar)	55
2.4.6	Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio	57
2.5	Procedimiento para la toma de muestras de piel y tejidos blandos	59
2.5.1	Objetivo y principios generales	59
2.5.2	Definiciones	59
2.5.3	Condiciones para la toma de la muestra	60
2.5.4	Precauciones de bioseguridad	60
2.5.5	Instrucciones para la toma de muestras de piel y tejidos blandos	60
2.5.5.1.	Toma de muestra de heridas cerradas	60
2.5.5.2.	Toma de muestra de heridas abiertas	61
2.5.5.3.	Toma de la muestra obtenida a través de biopsias y curetajes	63
2.5.6	Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio	64
2.6	Procedimiento para la toma de muestras del tracto gastrointestinal	65
2.6.1	Objetivo y principios generales	65
2.6.2	Definiciones	66
2.6.3	Condiciones para la toma de la muestra	66
2.6.4	Precauciones de bioseguridad	66
2.6.5	Instrucciones para la toma de muestras del Tracto gastrointestinal	66
2.6.5.1.	Toma de muestra de contenido gástrico para cultivo de Micobacterias.	66
2.6.5.2.	Toma de muestra de material fecal	68
2.6.5.3.	Toma de muestra de hisopado rectal	68

2.7	Procedimiento para la toma de muestras del tracto genital	70
2.7.1	Objetivo y principios generales	70
2.7.2	Definiciones	70
2.7.3	Condiciones para la toma de la muestra	71
2.7.4	Precauciones de bioseguridad	71
2.7.5	Instrucciones para la toma de muestras del tracto genital	71
2.7.5.1	Toma de muestra de lesiones o úlceras	71
2.7.5.2	Toma de muestra de exudado uretral	73
2.7.5.3	Toma de muestra de exudado vaginal	75
2.7.5.4	Toma de muestra de exudado cervical	76
2.7.5.5	Toma de muestra de exudado de la glándula de Bartolin	77
2.7.5.6	Toma de muestra de secreción prostática	78
2.7.5.7	Toma de muestra de semen	79
2.7.6	Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio	80
2.8.1	Objetivo y principios generales	82
2.8.2	Definiciones	82
2.8.3	Condiciones para la toma de la muestra	83
2.8.4	Precauciones de bioseguridad	83
2.8.5	Instrucciones para la toma de muestras de líquidos de las cavidades corporales	83
2.8.5.1	Toma de muestra de secreciones óticas	83
2.8.5.2	Toma de muestra de secreciones conjuntivales	84
2.8.6	Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio	85
3.	MUESTRAS AMBIENTALES	87
3.1	Procedimiento para la toma de muestras ambientales en instituciones prestadoras de servicios de salud	87
3.1.1	Objetivo y principios generales	87
3.1.2	Definiciones	88
3.1.3	Precauciones de Bioseguridad	88
3.1.4	Control microbiológico del aire	89
3.1.4.2	Control microbiológico del agua	91
3.1.5	Control microbiológico de superficies	92

3.1.5.1. Toma de muestras superficies no absorbentes y superficies irregulares	94
3.1.5.2. Toma de muestras de superficies planas	95
3.1.6 Toma de muestra de soluciones Líquidas	96
3.1.7 Toma de muestras del personal de la salud	96



Introducción

El laboratorio de microbiología es una de las principales fuentes de información y de apoyo diagnóstico para la toma de decisiones clínicas; la capacidad que éste tiene para identificar microorganismos patogénicos y predecir una respuesta a la terapia con antibióticos, le permite ser miembro activo de los comités de prevención de infecciones y aportar datos claves para la investigación epidemiológica intra y extra hospitalaria de las enfermedades infecciosas (L Raka, 2012).

La calidad de los resultados generados por los laboratorios, depende del óptimo cumplimiento de los procedimientos que dan lugar a las fases preanalítica, analítica y pos analítica. La integración adecuada de cada uno de los pasos para la generación de resultados, permite minimizar el riesgo de error diagnóstico, aumentar la seguridad de los pacientes y disminuir la inadecuada utilización de los recursos tanto materiales como económicos; en este sentido, el proceso de toma y transporte de muestras es considerado uno de los más importantes eslabones de la cadena (P Murray, 2010).

Por esta razón, aunque existe la concepción que el personal del laboratorio clínico es el encargado de todo el proceso, cada profesional del área de la salud debe tener un conocimiento mínimo para la toma de muestras microbiológicas y las condiciones necesarias para el transporte hasta el laboratorio de microbiología. El seguimiento de las pautas establecidas para la toma de muestras, permitirá evitar inconvenientes como la contaminación, material insuficiente o retrasos inusitados para el inicio del proceso analítico entre otros. Además, una adecuada toma de muestras juega un papel decisivo en el apoyo al comité de infecciones

para el diagnóstico preciso de las infecciones asociadas a la atención en salud (J Christenson, 2012).

Teniendo en cuenta la importancia del proceso, en el año 2008 la Secretaría Distrital de Salud publicó la primera edición del “Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico” con el objetivo de unificar criterios en torno a la preparación de la muestra microbiológica, describir el equipo necesario para la obtención de la muestra y los cuidados y recomendaciones a seguir en una técnica adecuada de recolección y transporte para garantizar la viabilidad del espécimen. En ese momento se realizó un proceso que incluyó búsqueda explícita de la literatura, evaluación de la evidencia publicada y recopilación de la experiencia local. En los aspectos que fueron motivos de controversia se llevó a cabo una reunión de consenso distrital.

El propósito de esta nueva edición es realizar una actualización de todos los contenidos del Manual, unificar criterios en la presentación de los mismos y construir de esta manera una herramienta que integre lineamientos y conceptos técnicos que permitan fortalecer el control de las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) acorde con los avances internacionales en el control de infecciones y las experiencias exitosas de diferentes centros de referencia de la ciudad de Bogotá.

Para cumplir el objetivo propuesto, se realizó un diagnóstico inicial de las debilidades, fortalezas y oportunidades de mejoramiento del manual realizado en el 2008, de tal forma que la presente actualización tenga las instrucciones completas para la toma de las muestras, las precauciones estándar para su manipulación y transporte, y las recomendaciones especiales para el adecuado etiquetado e identificación de los especímenes con el propósito de evitar la generación de errores preanalíticos. Además se incluyó una búsqueda de la literatura en cada uno de los aspectos que debían ser actualizados y posteriormente se sometió a un consenso no formal de expertos que incluyó referentes de la Secretaría Distrital de Salud, miembros de comités de infecciones y laboratorios clínicos de algunas instituciones del Distrito, así como expertos de áreas clínicas y de apoyo diagnóstico.

Bibliografía

1. Raka L. Specimen collection and transport. In Kulich DTP. The Infection Preventionist's Guide to the Lab. Washington D.C.: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, APIC 2012. p. 1-18.
2. Murray P. The Clinician and the Microbiology Laboratory. In Mandell JBG. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases: Churchill Livingstone; 2010. p. 233-62.
3. Christenson J, et al. The clinician and the laboratory. In Long's Principles and Practice of Pediatric Infectious disease 4°Ed.; 2012. p. 1373.



1.

Aspectos generales

EL LABORATORIO CLÍNICO, LA CALIDAD Y LA TOMA DE MUESTRAS

El creciente número de pacientes a ser atendidos a nivel mundial, ha llevado a los laboratorios clínicos, al igual que otros actores de los sistemas de salud, a la realización de grandes esfuerzos encaminados a incrementar su productividad y su calidad para responder eficientemente en un entorno enmarcado por la disminución de los costos y la optimización del tiempo del personal (O Martínez, 2013). La presión generada, ha obligado a los laboratorios a revisar juiciosamente sus procesos, a mejorar la comunicación con los médicos, los pacientes y a desarrollar herramientas técnicas, computacionales y logísticas que le permitan asegurar los tiempos de respuesta con un mayor volumen de muestras, garantizando la calidad de las pruebas y ante todo la seguridad de los pacientes (CLSI, 2006).

En este sentido, el concepto de calidad comprende la totalidad de las características de un producto o servicio que le confieren aptitud para satisfacer las necesidades definidas en un acuerdo de prestación de servicios con un usuario (J Gallego, 2005). Por esta razón, los laboratorios clínicos y microbiológicos deben prestar un servicio de calidad que permita ofrecer información útil al médico tratante para realizar un adecuado diagnóstico, tratamiento y seguimiento de sus pacientes (De la Fuente, 2003).

Teniendo en cuenta este enfoque centrado en el paciente, es indispensable que los procesos del laboratorio se encuentren estandarizados, de tal forma que sus resultados sean confiables, exactos y reflejen el estado

fisiológico o patológico del paciente, conocedores de que cualquier error puede poner en riesgo la vida del paciente (O Martínez, 2013).

Con este propósito, los laboratorios clínicos han incorporado los sistemas de gestión y aseguramiento de la calidad, los cuales permiten estructurar los procesos y definir políticas y objetivos de control claramente definidos alrededor de la calidad (J Gallego, 2005).

Por lo anterior, el aseguramiento de la calidad exige que todas las actividades y procedimientos sean sistemáticos y planificados de manera que pueda demostrar confianza en el producto final y que cumpla con los requisitos deseados, minimizando al máximo la posibilidad de error al final del proceso. Los resultados se ven reflejados en la mejora continua de la prestación de los servicios (I Mojica, 2012).

El laboratorio clínico ha estructurado tres grandes procesos en su flujo de trabajo: el preanalítico, el analítico y el posanalítico. Cada proceso utiliza recursos humanos, equipos, métodos y materiales para transformar órdenes médicas y muestras de pacientes en informes de resultados para el manejo de los pacientes (CLSI, 2008).

Fase preanalítica: Es un proceso clave en el flujo de trabajo del laboratorio en el cual participan diferentes trabajadores del área de la salud; las actividades más relevantes incluyen la orden de la prueba, la toma de la muestra, el transporte del espécimen y la recepción en el laboratorio. En el caso del Manual de toma de muestras, la actualización de este proceso corresponde al alcance esperado.

Fase analítica: Corresponde a la fase del proceso en la cual ocurre el procesamiento de la muestra y la generación del resultado, así como el análisis y correlación clínica de los resultados obtenidos. Se encuentra fuera del alcance del manual.

Fase posanalítica: Esta fase del proceso de toma de muestras, incluye actividades relacionadas con la generación de informes de resultados así como la entrega de los mismos a los pacientes. De la misma manera que la fase analítica, esta fase del proceso se encuentra fuera del alcance del Manual de toma de muestras.



1.1. Recomendaciones para la toma de muestras

Para el éxito de la atención del paciente es esencial la comunicación entre todo el equipo de salud. El médico solicitará un estudio microbiológico con una orientación clara de acuerdo con la situación clínica del paciente. El personal de enfermería y laboratorio microbiológico requiere conocimientos e información precisa para realizar el procedimiento en condiciones óptimas; y el personal encargado del transporte debe estar capacitada adecuadamente para mantener la muestra en términos de tiempo y características hasta su entrega al área de análisis. Todo el personal debe tomar conciencia de la importancia de sus actividades, para contribuir a los objetivos de calidad.

1.2. Solicitud de estudio

Antes de colectar un espécimen se debe hacer una selección cuidadosa para garantizar que el sitio fuente representa el lugar de la enfermedad activa. Las muestras para cultivo de bacterias se deben obtener con prontitud, después del inicio de la enfermedad activa y preferiblemente antes del inicio de antibióticos.

Los sitios anatómicos que ofrecen más posibilidad de obtener muestras contaminadas son: la vejiga desde la uretra y el periné; la sangre, las heridas superficiales y el tejido celular subcutáneo desde la piel; el endometrio desde la vagina; el oído medio desde el conducto auditivo externo; y el seno nasal desde la nasofaringe.

Recuerde:

- Especificar el estudio requerido; por ejemplo, examen directo, cultivo y antibiograma de líquido intraabdominal, estudios de aerobios y anaerobios.
- Resumir el diagnóstico clínico presuntivo del paciente. La impresión diagnóstica es especialmente útil cuando se solicita estudio de hongos y micobacterias.
- Informar el uso de antibióticos u otros medicamentos (por ejemplo, inmunosupresores) que pueden influir y que el personal del laboratorio puede utilizar para orientar el análisis.

1.3. Precauciones de bioseguridad

La manipulación inapropiada puede convertirse en una fuente de riesgo biológico para las personas que están en contacto o para el medio ambiente. Se deben utilizar los siguientes elementos de protección personal necesarios para evitar exposición con riesgo biológico, de acuerdo con la fuente de la muestra:

- Protección ocular: gafas o mascarilla con visera.
- Tapabocas o mascarilla.
- Guantes.
- Bata.
- Contenedores para especímenes, a prueba de fugas y de fácil sellamiento.

Se debe cumplir con las recomendaciones de manejo de elementos cortopunzantes:

- No reenfundar agujas.
- Disponer y utilizar adecuadamente el contenedor para cortopunzantes.
- No transportar jeringas con agujas. Se recomienda transferir el aspirado a un tubo estéril.

- En caso de accidente con riesgo biológico, avisar inmediatamente según las recomendaciones del protocolo de accidente de trabajo con riesgo biológico institucional.

1.4. Preparación de elementos

Una vez conocida la solicitud del tipo de examen, se debe preparar el equipo necesario para la obtención, la conservación y el transporte correcto de la muestra. Las propiedades biológicas de ésta pueden ser alteradas por variables medioambientales como: tiempo, contenedor o contaminación externa. Por ejemplo, el análisis de anaerobios requiere que la muestra se obtenga por biopsia o aspirado con aguja y el uso de escobillones está contraindicado. Los escobillones de mango de madera y algodón en la punta **NO** se recomiendan para estudio de virus *herpes simplex*, ya que pueden ser inactivados por sus componentes tóxicos, adicionalmente los componentes de ácidos grasos interfieren con la sobrevida de algunas especies de *Chlamydia*. Este tipo de escobillón se encuentra indicado para la detección de *Mycoplasma* en uretra, vagina y cérvix, y para la detección de la mayoría de bacterias no exigentes nutricionalmente. Los escobillones de dacrón están indicados para la detección de virus y facilitan la sobrevida de *Streptococcus pyogenes*. Los escobillones de alginato de calcio son útiles para la detección de *Chlamydia spp*, están contraindicados para la colección de especímenes con sospecha de virus de cubierta lipídica y algunas cepas de *Neisseria gonorrhoeae*.

1.5. Equipo de asepsia y antisepsia

Las soluciones antisépticas recomendadas para la preparación de la piel con el fin de reducir el conteo de bacterias viables que pueden contaminar los especímenes son: Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%. En caso de factores de contraindicación y

necesidad de aplicación en mucosas se recomienda el uso de soluciones con bases yodadas. En todos los procesos para tomar muestras se deben seguir las indicaciones para higiene de manos que incluyen los cinco momentos según los lineamientos adaptados por la Secretaría Distrital De Salud de la estrategia multimodal de la Organización Mundial de la Salud.

1.6. Identificación de muestras

Toda muestra debe ser etiquetada con los siguientes datos básicos:

1. Nombre completo y edad del paciente.
2. Número de historia clínica
3. Habitación donde está ubicado el paciente o servicio de localización.
4. Tipo de muestra y sitio anatómico. Por ejemplo, secreción de herida quirúrgica abdominal; biopsia tejido úlcera pie diabético; orina obtenida a través de sonda vesical permanente; sangre obtenida a través de catéter venoso central, etc.
5. Fecha y hora de recolección.
6. Iniciales de la persona que obtiene la muestra.

1.7. Condiciones generales de almacenamiento y transporte

El tiempo de transporte de todos los especímenes obtenidos para estudio debe ser corto (máximo de 2 horas) y de acuerdo con la viabilidad del organismo sospechado y el recipiente donde se colectó.

- Según el volumen obtenido: menos de 1 ml ó 1 cc deben ser transportados en los primeros 15 a 30 minutos para evitar evaporación, desecación y exposición a condiciones ambientales.

- Las bacterias que requieren procesamiento inmediato por su susceptibilidad al medio ambiente son: *Shigella* spp, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y anaerobios.
- Las muestras para estudio de anaerobios no deben ser refrigeradas y deben ser colectadas en recipientes que mantengan condiciones libres de oxígeno.
- Muestras de líquido espinal, especímenes de vagina, oído interno y ojos no deben ser refrigeradas.
- Los frascos para recolección de líquidos deben tener tapa rosca; no se recomienda el uso de tapones de gasa o algodón que pueden absorber el líquido colectado y generar el riesgo de derramamiento y exposición biológica.
- Deben ser transportadas en recipientes o contenedores que eviten el contacto y disminuyan el riesgo de exposición al personal que transporta la muestra.

1.8. Criterios de aceptabilidad o rechazo de muestras

Cuando no se mantienen las condiciones de colección y transporte recomendadas se debe obtener una nueva muestra, siempre que sea posible. Cantidades insuficientes, temperaturas inadecuadas, recipientes rotos o con fugas o deficiente calidad de la muestra (por ejemplo, esputo contaminado con saliva; orina obtenida de bolsa colectora), deben ser tenidos en cuenta para no procesar el espécimen.

- **Muestras sin identificar:** los especímenes obtenidos por medios no invasivos se deben volver a obtener; los obtenidos por medios invasivos se procesan previa autorización del médico.
- **Transporte demorado:** definido como el tiempo superior al recomendado para cada tipo de muestra; solo se procesan previa autorización del médico: de lo contrario se deben repetir.
- **Muestras repetidas:** en un mismo día y especímenes diferentes a tejido o sangre, requieren confirmación de la orden por parte del médico.

1.9. Cadena de custodia y pruebas de laboratorio

Este es un procedimiento de cumplimiento obligatorio para la toma y el transporte de muestras de análisis microbiológico, intra o interinstitucionalmente y es opcional para otros análisis de laboratorio.

Las consideraciones jurídicas se basan en normas internacionales para el transporte de materiales peligrosos que incluye las Recomendaciones del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el transporte de artículos peligrosos. La Unión Postal Universal (UPU) incluye estas recomendaciones en sus regulaciones, particularmente las relacionadas con el embalaje. La Organización Internacional de Aviación Civil (OACI) y la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA) también han incorporado, como lo han hecho otras organizaciones de transporte, las Recomendaciones de las Naciones Unidas en sus respectivas regulaciones. La Organización Mundial de la Salud actúa como asesora de estas organizaciones.


Bibliografía

1. Martínez O, et al. Auto verificación del hemograma. En proceso de Publicación. 2013.
2. CLSI. Autoverification of Clinical Laboratory Test Results; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006 26; 32(1).
3. Gallego J. "Manual de Calidad, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia,". 2005.
4. De la Fuente Capdevilla B. El laboratorio clínico y la gestión de la calidad por procesos. *Quím Clín* 2003; 22(2): 44-47.
5. Mojica I, et al. Evaluación del rendimiento de la técnica de procesamiento histotecnológico libre de xilol versus la técnica convencional en el Laboratorio de Patología Interfacultades de la Universidad Nacional de Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 2012.
6. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Clinical Laboratory Procedure Manuals; Approved Guideline-Fourth edition. Vol 22 No. 5 - GP2-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute. GP2-4. 2008.



2.

Muestras clínicas



2.1. Procedimiento para la toma de muestras para identificación de infecciones del torrente sanguíneo.

2.1.1. Objetivo y principios generales

El propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la toma adecuada de las muestras para identificación de infecciones del torrente sanguíneo y del sistema cardiovascular.

Los hemocultivos se han convertido en el estándar de oro para la detección de bacteremias y fungemias, convirtiéndose en una herramienta fundamental para el profesional de la salud. El diagnóstico de infecciones del torrente sanguíneo es una de las funciones más críticas de los laboratorios de microbiología a nivel mundial, debido a la alta tasa de morbilidad y mortalidad atribuible a la sepsis. La recuperación de microorganismos circulantes en la sangre de los pacientes tiene gran importancia diagnóstica y pronóstica, ya que indica la falla del sistema inmune del paciente para contener los procesos infecciosos en su localización primaria. La presencia de un hemocultivo positivo permite establecer el agente etiológico y la susceptibilidad de los microorganismos a los antibióticos, facilitando su adecuado tratamiento.

Al igual que cualquier prueba diagnóstica, los resultados llamados falsos positivos pueden limitar la utilidad de esta importante herramienta. Estos resultados se presentan principalmente debido a contaminación ocasionada por microorganismos que no están realmente presentes en la muestra de sangre obtenida, generalmente flora normal de la piel y que no está relacionada con la infección.

Un principal factor determinante de la capacidad de obtener resultados positivos y el aislamiento del microorganismo causante está relacionado con la extracción del volumen adecuado de muestra, por tanto el volumen de sangre que se cultiva es crucial para lograr la detección de los microorganismos, ya que volúmenes más bajos de los óptimos pueden llevar a obtener resultados falsos negativos.

2.1.2. Definiciones

- **Antiséptico:** Sustancia que inhibe el crecimiento y desarrollo de microorganismos.
- **Sistema automatizado de hemocultivos:** Sistema mecánico automatizado que permite agitar, monitorizar e incubar las botellas de hemocultivo para evaluar el crecimiento de microorganismos.
- **Bacteremia:** Es la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo. Dependiendo del tipo de bacteria y tiempo de crecimiento puede ser considerada como causa de la sepsis o un agente contaminante al momento de la toma de la muestra.
- **Hemocultivo:** Muestras que son tomadas de un paciente para evaluar la presencia de bacterias u hongos en el torrente sanguíneo.
- **Juego (sets) de hemocultivos:** Es el número de botellas de hemocultivos (2 ó 3 en pacientes adultos y para población pediátrica depende del volumen extraído) en los que se siembra una muestra de sangre del paciente obtenida de un mismo sitio de punción. Habitualmente está conformado por una botella para detección de microorganismos anaerobios y una para detección de microorganismos aerobios. En caso de sospecha de infección por hongos, el juego de hemocultivos incluye una botella para hongos.
- **Gluconato de Clorhexidina:** Agente tópico utilizado como antiséptico de la piel.
- **Agente Contaminante:** Microorganismo aislado de un hemocultivo, el cual fue introducido en éste durante la toma de la muestra o el procesamiento del hemocultivo, razón por la cual no se considera como agente etiológico.
- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.
- **Desinfectante:** Sustancia que reduce la concentración de bacterias, hongos o virus sobre una superficie.

- **Fungemia:** Presencia de hongos (hifas o levaduras) en el torrente sanguíneo.
- **Volumen Inadecuado de Sangre:** Cuando el volumen de sangre inoculado en la botella de hemocultivo es menor al 80% del volumen mínimo requerido en la etiqueta de la botella.
- **Yodopovidona:** Compuesto de yodo y polivinilpirrolidona soluble en agua, utilizada como agente antiséptico de la piel.
- **Sepsis:** Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica producto de una infección.
- **Tintura de yodo:** Solución de yodo y yoduro potásico a base de alcohol, utilizada como agente antiséptico para la piel.
- **Venopunción:** Punción de una vena para la obtención de la muestra de sangre.
- **Especificidad:** Probabilidad que el cultivo no muestre crecimiento si la bacteremia es ausente. Es decir, la especialidad caracteriza la capacidad de la prueba para detectar la ausencia de la enfermedad en sujetos sanos.
- **Sensibilidad:** Probabilidad que el cultivo muestre crecimiento si la bacteremia está presente: verdaderos positivos. Es decir, la sensibilidad caracteriza la capacidad de la prueba para detectar la enfermedad en sujetos enfermos.

2.1.3. Condiciones para la toma de la muestra

- Los juegos de hemocultivos deben ser obtenidos simultáneamente o con poco tiempo de diferencia entre cada uno. La toma de la muestra en intervalos de tiempo está indicada solo cuando es necesario documentar bacteremias continuas en pacientes con sospecha de endocarditis infecciosa o en infecciones endovasculares.
- De ser posible, tomar las muestras para hemocultivos antes de iniciar terapia antimicrobiana para evitar resultados falsos negativos. En caso de no ser posible, se recomienda el uso de botellas para hemocultivo con resinas, las cuales atrapan el antibiótico facilitando el crecimiento de los microorganismos.
- En el caso de hemocultivos obtenidos de venas periféricas, se recomienda utilizar la vena mediana cubital o las venas cefálicas de los miembros superiores. La toma de muestras de sangre arterial o de venas de miembros inferiores, aumenta el riesgo de eventos adversos, de contaminación y disminuye la posibilidad de recuperación microbiológica. (CLSI M47A, 2012). No se recomienda

extraer la sangre de líneas periféricas ya canalizadas, en el caso de líneas centrales la toma de sangre a partir de ellas está indicada para la investigación de infecciones asociadas con la misma y siempre precedida de la toma de una muestra de sangre de vena periférica.

- Se debe seguir una técnica aséptica estricta a lo largo de todo el procedimiento de la toma de hemocultivos.
- Las botellas de hemocultivos en su parte externa no son estériles, razón por la cual se recomienda desinfectar la tapa de caucho de la botella utilizando alcohol isopropílico al 70% (CLSI, 2012). No se recomienda el uso de tintura de yodo para la desinfección de la tapa, ya que se puede generar erosión de ésta durante el periodo de incubación, aumentando el riesgo de contaminación. Se ha demostrado previamente que la desinfección de la tapa de la botella disminuye el riesgo de contaminación de los hemocultivos. (Hall and Lyman, 2006)
- El volumen de sangre obtenido durante la toma de hemocultivos es el factor determinante en la recuperación del microorganismo causante de la infección. La tasa de aislamiento de patógenos obtenidos de hemocultivos aumenta con la cantidad de sangre tomada; por tanto, los hemocultivos pueden ser falsamente negativos si el volumen inoculado en la botella es insuficiente. (Connell, 2007). No se recomienda la toma de un solo juego de hemocultivos en pacientes adultos.
- En pacientes adultos idealmente se debe obtener un volumen mínimo de 20 mL por cada juego de hemocultivos (volumen extraído por cada venopunción). Se recomienda tomar dos juegos de dos sitios anatómicos diferentes. Este volumen se debe dividir así: 10mL para la botella anaeróbica y 10 mL para la aeróbica. (CLSI, 2012).
- En neonatos, algunos estudios sugieren que la inoculación de 1 mL de sangre en la botella puede ser el volumen suficiente para obtener una adecuada sensibilidad cuando se utiliza una botella única.
- En lactantes y niños, el volumen óptimo de sangre que se debe extraer no se ha definido con absoluta certeza; sin embargo los resultados de diferentes estudios realizados muestran una relación directa entre el volumen de sangre cultivada y la capacidad de detectar infecciones en el torrente sanguíneo. (Wilson I. Gonsalves, 2009). Se debe tener en cuenta que no se recomienda dividir la muestra en dos botellas.

En neonatos y prematuros se recomienda tomar dos juegos, cada uno con un volumen mínimo de 0.5 mL.

Población	Edad	Sitio	Volumen Mínimo	Botellas
Neonatos	0-28 días (o pacientes en URN)	vena periférica	<8 kg: 1 mL	Una botella pediátrica aeróbica
Niños	1-3 meses	vena periférica	<8 kg: 1 mL	Una botella pediátrica aeróbica
	3-36 meses	vena periférica	<8 kg: 1 mL 8-13 kg: 3 mL 13-27 kg: 5 mL	Botella pediátrica aeróbica si el volumen es menor de 0,5 - 4 mL Botella aeróbica de adulto si el volumen es mayor de 4,0 mL
	4-11 años	vena periférica	8-13 kg: 3 mL 13-27 kg: 5 mL 27-40 kg: 10 mL >40 kg: 10 mL	Botella pediátrica aeróbica si el volumen es menor de 0,5 - 4 mL Botella aeróbica de adulto si el volumen es mayor de 4,0 mL
	12-17 años	vena periférica; considerar dos venas de sitios separados para 2 cultivos	27-40 kg: 10 mL >40 kg: 10 mL	Botella pediátrica aeróbica si el volumen es menor de 0,5 - 4 mL Botella aeróbica de adulto si el volumen es mayor de 4,0 mL

Tomado de: BLOOD CULTURES AND CENTRAL CATHETERS: IS THE "EASIEST WAY" BEST PRACTICE?
Margo Halm, RN, PhD, ACNS-BC, Tracy Hickson, MLS (ASCP), CMSM, Deanna Stein, RN, Matthew
Tanner, PharmD, BCPS, and Sheila VandeGraaf, PBT (ASCP)

- En población pediátrica se deben seguir recomendaciones de volumen de acuerdo a la edad y el peso como se presenta en el cuadro a continuación:

Cuadro 1. Volúmenes de sangre a extraer por juego de hemocultivo según edad y peso en población pediátrica.

- La toma de muestra de hemocultivos debe ser realizada por el personal de mayor experiencia en este tipo de procedimientos y se deben utilizar agujas con calibre 22 o 23. (CLSI M47A, 2012). También puede utilizarse un equipo con aguja de mariposa.

2.1.4. Condiciones de Bioseguridad

- Para el procedimiento de toma de muestras el personal debe contar con todas las barreras de seguridad que le permitan asegurar su integridad. El flebotomista debe contar siempre con guantes estériles, bata antifluidos, mascarilla facial o tapabocas, gafas protectoras y gorro.
- Una vez finalizado el procedimiento, la bata y los guantes se deben descartar en el recipiente destinado para dicho fin. Los residuos corto punzantes (agujas y/o tubos) deben ser descartados en el contenedor para estos residuos.
- **Recuerde:** Intercambiar agujas para la inoculación en las botellas, no mejora la sensibilidad del procedimiento y por el contrario puede aumentar el riesgo de un accidente de riesgo biológico.

2.1.5. Instrucciones para la toma de muestras del Torrente sanguíneo

2.1.5.1. Toma de muestra de hemocultivos periféricos

El propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la toma adecuada de las muestras para identificación de infecciones del torrente sanguíneo y del sistema cardiovascular.



Materiales

- Botellas para hemocultivo (anaerobio, aerobio, hongos) según número de juegos de hemocultivo solicitados.
- Jeringa de 20 ml por cada juego a tomar o sistema de colección directo (camisa estéril) para pacientes adultos. Para población pediátrica

jeringas con capacidad suficiente de acuerdo al volumen que se va a extraer.

- Gasas estériles.
- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con bases yodadas.
- Torniquete.
- Campos estériles (opcional).
- Dos pares de guantes estériles (uno por cada juego a tomar).
- Bata quirúrgica.
- Mascarilla quirúrgica o tapabocas.
- Gafas de protección.
- Venda adhesiva.
- Gorro.
- Alcohol isopropílico al 70%.



Procedimiento

El personal que realice la toma de muestras de hemocultivo debe ser personal idóneo con entrenamiento, actualización y seguimiento continuo de la técnica.

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de hemocultivo. Toda orden médica para la toma de hemocultivo debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente
 - Número de identificación
 - Número de juegos de hemocultivo que el médico quiere que se cultiven y si se requiere cultivo de hongos
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Identificar con nombre y apellido al paciente y verificar que esta información corresponda al indicado en la orden médica.

- Explicar al paciente o familiares el procedimiento a realizar.
- Revisar por medio de una lista de chequeo que todo el material que será utilizado se encuentra disponible y listo para realizar el procedimiento. Dejar sobre una mesa o bandeja a la cual se le haya realizado un proceso previo de limpieza y desinfección todos los materiales a utilizar garantizando el fácil acceso a ellos durante el procedimiento.
- Desinfectar la tapa de caucho de la botella de hemocultivo utilizando una gasa estéril humedecida con alcohol isopropílico al 70% y dejar secar.
- Ubicar al paciente en posición apropiada, poner el torniquete, seleccionar y localizar la vena adecuada. Para ello, palpar y hacer seguimiento del trayecto de la vena en el brazo con el dedo. Verificar que el sitio de la venopunción se encuentra completamente normal. En el caso de pacientes con antecedente de mastectomía o fístulas siempre consultar con el médico tratante (CLSI H3 2005).
- Colocar gorro, tapabocas, gafas de seguridad o mascarilla visual y bata.
- Realizar higiene de manos e inmediatamente colocar guantes estériles.
- Realizar asepsia y antisepsia del sitio de venopunción con gasas estériles impregnadas de Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%, frotando el área. Dejar 30 segundos permitiendo que la piel se seque para la primera toma y 60 a 120 segundos en la segunda. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con bases yodadas.
- NOTA: En pacientes menores de dos meses, se recomienda utilizar alcohol isopropílico al 70% (Halm, 2011) o Gluconato de Clorhexidina al 0,5%.
- Mantener firme el brazo del paciente y con el dedo pulgar tensar la piel, haciendo presión 2,5 a 5,0 cm por debajo de la zona de punción.
- Con el bisel de la aguja hacia arriba, realizar la venopunción utilizando un ángulo de inserción menor a los 30 grados.
- Mantener la aguja tan estable como sea posible, mientras extrae lentamente el volumen requerido.
- Retirar el torniquete.
- Sacar la aguja, hacer presión con una gasa sobre el área de venopunción y colocar un vendaje adhesivo sobre la zona de venopunción.
- En adultos dividir el contenido de la jeringa así: 10 mL para la botella anaeróbica y 10 mL para la botella aeróbica sin cambiar de aguja. Siempre inocular primero la botella anaeróbica y luego la aeróbica. En pacientes pediátricos inocular de acuerdo al volumen extraído.
- Mezclar por inmersión las botellas.

- Descartar la aguja en el contenedor para residuos cortopunzantes.
- Repetir el mismo procedimiento para la toma del segundo juego de hemocultivo en un sitio diferente.

NOTA: En caso de contar con un sistema cerrado de colección, una vez se realice la punción, la sangre deberá ser inoculada directamente en cada una de las botellas. Se debe asegurar siempre que éstas y el sistema de colección se debe mantener por debajo del nivel del sitio de la venopunción, en ese caso la primera botella a inocular será la botella aeróbica seguida de la botella anaeróbica. Una vez terminado el proceso, descartar la aguja en el contenedor para residuos cortopunzantes.

- Una vez terminado el proceso de venopunción retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Marcar las botellas incluyendo el sitio de toma y la hora de realización del procedimiento. Tenga en cuenta no tachar, ni rayar o colocar rótulos sobre la zona del código de barras de las botellas.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.1.5.2. Toma de muestra de hemocultivos a través de catéter central

Para toma de muestra por vía de catéter central, en el caso de sospechar infecciones del torrente sanguíneo asociadas con el dispositivo se debe tomar simultáneamente un juego de hemocultivo por vena periférica (siguiendo las instrucciones y recomendaciones del numeral anterior para adultos y población pediátrica).



Materiales

- Botellas para hemocultivo (anaerobio, aerobio, hongos).
- Jeringa de 20 mL por cada juego a tomar para pacientes adultos. Para población pediátrica jeringas con capacidad suficiente de acuerdo al volumen a extraer.
- Gasas estériles.

- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%.
- Alcohol isopropílico al 70%.
- Campo estéril.
- Guantes estériles.
- Bata quirúrgica estéril.
- Mascarilla quirúrgica o tapabocas.
- Gafas de protección.
- Gorro.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente e iniciar el procedimiento debe realizar higiene de manos.
- Colocar guantes estériles.
- Cerrar el paso de infusión intravenosa, durante 3 – 5 minutos (dependiendo de la condición del paciente).
- Elegir un puerto próximo, realizar limpieza por 15 segundos utilizando una solución de Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70% y permitir que seque.
- En adultos extraer 20 mL de sangre de la vía y dividir el contenido de la jeringa así: 10 mL para la botella anaeróbica y 10 mL para la botella aeróbica sin cambiar de aguja. Siempre inocular primero la botella anaeróbica y luego la aeróbica. Para población pediátrica seguir recomendaciones de volumen de acuerdo a la edad y peso del paciente como se describe en el cuadro 1.
- Mezclar por inmersión las botellas.
- Descartar la aguja en el contenedor para residuos cortopunzantes.
- Una vez terminado el proceso de venopunción retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Marcar las botellas incluyendo el sitio de toma y la hora de realización del procedimiento. Tenga en cuenta no tachar, ni rayar o colocar rótulos sobre la zona del código de barras de las botellas.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.1.5.3. Cultivo punta del catéter venoso central

Aunque no existen estudios conclusivos que demuestren cuál es el mejor método para confirmar una infección del torrente sanguíneo relacionada directamente con el catéter, el cultivo cuantitativo (método de MAKI) es el método que provee mayor exactitud para hacer el diagnóstico.

Siempre para poder realizar este procedimiento, se requiere el retiro del dispositivo y la toma de hemocultivos simultáneos (por venopunción o a través del catéter central según el caso). (CLSI M47A, 2012).

Antes de tomar la muestra de la punta del catéter, obtener los juegos de hemocultivo por venopunción periférica y el juego de hemocultivo a través del catéter central, según indique la orden médica siguiendo las recomendaciones de los numerales anteriores para estos procedimientos.



Materiales

- Gasas estériles.
- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%. En situaciones e hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con bases yodadas.
- Guantes estériles.
- Bata quirúrgica estéril.
- Mascarilla quirúrgica o tapabocas.
- Gafas de protección.
- Gorro.
- Tubo estéril.
- Pinza y tijeras estériles.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Colocar gorro, tapabocas, gafas de seguridad o mascarilla facial
- Realizar higiene de manos.
- Colocar bata quirúrgica y guantes.

- Realizar asepsia y antisepsia del sitio de implantación del catéter con gasas estériles impregnadas de Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70% o solución con bases yodadas en el caso de presentar hipersensibilidad al Gluconato de Clorhexidina. Dejar 30 segundos o 60 segundos si se utiliza alguna solución con bases yodadas; permitir que se seque.
- Retirar el catéter e inmediatamente, cortar la punta del dispositivo a 4 ó 5 cm del extremo distal utilizando una pinza y una tijera estéril.
- Colocar inmediatamente el segmento cortado en un tubo seco estéril.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Marcar los tubos donde fueron tomadas las muestras.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.1.6. Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio

Todas las botellas de hemocultivos y cultivos de punta de catéter, deben ser enviados al laboratorio lo más pronto posible, idealmente en los primeros quince minutos y no más de dos horas de haber sido tomadas las muestras. El retraso en el ingreso de las botellas a los equipos para hemocultivos, puede retrasar o impedir la detección del crecimiento de microorganismos.

Después de haber sido inoculadas las botellas de hemocultivos, se recomienda mantener el menor tiempo posible a temperatura ambiente. Nunca se deben refrigerar o congelar las botellas por el alto riesgo de muerte los microorganismos (CLSI M47A,2012).

Bibliografía

1. Health Care Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities. Centers for Disease Control and Prevention. 2003.

2. Connell T, et al. How reliable is a negative blood culture result? Volume of blood submitted for cultures in routine practice in a children's hospital. *Pediatrics* 2007; 119: 891-96.
3. Hall K, et al. Update review of Blood Culture Contamination. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(4):788. 2006.
4. Madeo M, et al. Simple measures to reduce the rate of contamination of blood cultures in accident and emergency. *Emerg Med J* 2005; 22(11): 810-1.
5. Halm M, et al. Blood Cultures And Central Catheters: Is the "Easiest Way" Best PRactice? *American Journal of Critical Care* 2011; 20(4): 335-38.
6. NCCLS. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture. Approved Standard—Fifth Edition. NCCLS document H3-A5. NCCLS. 2003.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI document GP16-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012



2.2 Procedimiento para la toma de muestras de Orina

2.2.1 Objetivo y principios generales

La orina es normalmente un fluido corporal estéril (Mount Sinai Hospital, 2013). Se estima que a nivel mundial ocurren cerca de 150 millones de infecciones urinarias que resultan en más de 6 billones de dólares en gastos directos a los sistemas de salud y más de 7 millones de consultas médicas ambulatorias (Wilson M, 2003) (Walter Stamm, 2001).

Las infecciones del tracto urinario son relativamente raras en los niños, excepto en caso de presencia de anomalías anatómicas o funcionales en la primera etapa de la vida; en niñas, se presenta con mayor frecuencia, aumentando los episodios repetidos de cistitis y pielonefritis. Durante la adolescencia y la adultez, las infecciones del tracto urinario no complicadas se incrementan significativamente en la población femenina alcanzando una incidencia de 0,5 a 0,7 por año y una tasa de recurrencia entre el 25% y el 30%. En el caso de las infecciones urinarias complicadas, el 40% de las infecciones nosocomiales son relacionadas con el cateterismo (Walter Stamm, 2001).

El diagnóstico de infección del tracto urinario puede ser fácil o difícil según la presentación clínica que tenga el paciente (Wilson M, 2003); sin embargo, la regla de oro estándar para el diagnóstico de infección del tracto urinario es el urocultivo (Perlhagen Markus, 2007).

Los agentes etiológicos responsables de las infecciones adquiridas en la comunidad son habitualmente diferentes a los nosocomiales; en los pacientes ambulatorios la enterobacteria *Escherichia coli* es la más frecuente, mientras que en el ámbito hospitalario, además de *E. coli*, pueden ser *Proteus sp*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas sp.*, entre otras. (Wilson M, 2003)

La exactitud del diagnóstico y del antibiograma depende del aislamiento del microorganismo, lo que permitirá una adecuada terapia. Sin embargo, el óptimo rendimiento del urocultivo como prueba diagnóstica, depende de la adecuada obtención de la muestra de orina, evitando al máximo la contaminación con la flora normal de la uretra distal y de la región perineal (Rashmi Shrestha, 2013).

En pacientes pediátricos mayores que controlan esfínteres, la recolección de las muestras por micción espontánea es la técnica ideal por su sencillez y nula invasividad. La situación es contraria en los casos de pacientes pediátricos que no controlan la micción, tema en el que no existen estimadores de validez generalizables; sin embargo, a pesar del riesgo de contaminación que tiene la utilización de una bolsa recolectora con banda adhesiva, éste es uno de los métodos más ampliamente utilizados a nivel mundial para obtener muestras de orina en este segmento de la población. La toma de muestra a través de catéter transuretral y la punción suprapúbica han sido consideradas como los métodos ideales de recolección en población pediátrica, pero su invasividad ha restringido su uso. (Ochoa Sangrador MF, 2007).

Se debe solicitar urocultivo cuando se tenga una alta sospecha de infección de vías urinarias o cuando se requiere detectar bacteriuria asintomática en donde es demostrada su utilidad (embarazo y pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos de la vía urinaria o manipulación de la misma que no incluyen sondaje de orina). La colonización de la orina es frecuente en ancianos, pacientes con sonda vesical a permanencia, con secuelas de trauma raquimedular, diabéticos, entre otros.

El propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la recuperación de microorganismos patógenos de especímenes de orina obtenidos de pacientes en los que se sospecha infección urinaria.

2.2.2 Definiciones

- **Antiséptico:** Sustancia que inhibe el crecimiento y desarrollo de microorganismos sin la necesidad de acabar las bacterias.
- **Agente Contaminante:** Microorganismo aislado de un urocultivo, el cual fue introducido dentro del cultivo durante la toma de la muestra o el procesamiento, razón por la cual no se considera como agente etiológico.

- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.
- **Desinfectante:** Sustancia que reduce la concentración de bacterias, hongos o virus en una superficie.
- **Falso Positivo:** Resultado positivo de una prueba diagnóstica cuando la enfermedad o la condición no se encuentra presente.
- **Yodopovidona:** Compuesto de yodo y polivinilpirrolidona soluble en agua, utilizada como agente antiséptico y desinfectante de la piel.
- **Verdadero Positivo:** Resultado positivo de una prueba diagnóstica para una enfermedad cuando la enfermedad o la condición se encuentra presente. En el caso de los urocultivos, es cuando el crecimiento del microorganismo se encuentra como consecuencia de la infección del tracto urinario.
- **Tintura de yodo:** Solución de yodo y yoduro potásico a base de alcohol, utilizada como agente para desinfectar la piel.
- **Especificidad:** Probabilidad que el cultivo no muestre crecimiento si la Infección del tracto urinario está ausente.
- **Sensibilidad:** Probabilidad que el cultivo muestre crecimiento si la infección urinaria está presente.
- **Catéter:** Tubo hueco de plástico o caucho que se pasa a través de la uretra con el propósito de recolectar la orina directamente desde la vejiga urinaria.
- **Sedimento Urinario:** Son los elementos concentrados posteriormente a la centrifugación de la orina. Incluyen células, cilindros, cristales y microorganismos.
- **Urocultivo:** Es el cultivo de orina para diagnosticar infección sintomática del tracto urinario o infección asintomática en pacientes con riesgo de infección.

2.2.3 Condiciones para la toma de la muestra

Todos las muestras de orina, a excepción de las muestras tomadas por cateterismo o por punción suprapúbica, deben ser obtenidas por el paciente; por esta razón, se deben tomar las medidas necesarias para evitar la contaminación de la muestra con secreción vaginal, esperma, vello púbico, polvos, aceites, lociones y otros materiales extraños. Las muestras nunca deben ser recogidas de pañales (CLSI, GP16A3, 2009). Teniendo en cuenta lo anterior, el personal del laboratorio debe entregarle al paciente las instrucciones para la toma de la muestra de orina de forma

clara y sencilla de entender que incluya forma adecuada de recolección de la muestra, condiciones de higiene y limpieza genital.

2.2.4 Precauciones de bioseguridad

Seguir las condiciones de bioseguridad estándar para la toma de muestras biológicas.

Para el procedimiento de toma de muestras por punción suprapúbica el personal debe contar con todas las barreras de seguridad que le permitan asegurar su integridad. El personal que toma la muestra debe contar siempre con guantes estériles, bata antifluidos, mascarilla facial o tapabocas, gafas protectoras y gorro.

Una vez finalizado el procedimiento, la bata y los guantes se deben descartar en el recipiente destinado para dicho fin. Los residuos cortopunzantes (agujas) deben ser descartados en el contenedor para estos residuos.

2.2.5 Instrucciones para la toma de la muestra

2.2.5.1 Toma de muestras por micción espontánea

Es la técnica utilizada con mayor frecuencia para la recolección de las muestras de orina. Tiene las ventajas de ser un método no invasivo, que no requiere supervisión si se han dado adecuadamente las instrucciones para la toma de la muestra, no es incómodo o doloroso para el paciente y puede ser realizado en casa, hospitales o laboratorios. (Wilson M, 2003)

Las desventajas que presenta este método incluyen que el paso de la orina por la uretra distal puede generar contaminación por arrastre de la flora bacteriana del perineo femenino o del glande en el hombre. La limpieza de la región perineal y del glande con antes de la toma de la muestra y la toma de la muestra en la mitad de la micción, busca disminuir el riesgo de contaminación.



Materiales

- Jabón de manos.
- Frasco recolector estéril de boca amplia y cierre a prueba de goteo (tapa rosca).



Procedimiento en hombres

- Revisar la orden médica para la toma de urocultivo. Tener en cuenta que ésta debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Pruebas que el médico solicita (uroanálisis, gram de orina sin centrifugar, urocultivo, etc.)
 - Condiciones especiales para la toma de la muestra (primera orina de la mañana, orina aleatoria).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Indicar al paciente las instrucciones para la toma de muestra.
- Antes de iniciar el procedimiento, el paciente debe lavarse las manos con agua y jabón.
- En el caso de pacientes que no se haya realizado la circuncisión, debe retraerse el prepucio para dejar expuesto el glande y el meato urinario.
- Una vez retraído el prepucio, limpiar del meato urinario hacia el glande con agua jabonosa. Dejar secar el glande por unos segundos.
- Iniciar la micción en el inodoro. Al llegar a la porción media de la micción, recolectar la muestra en frasco estéril sin contaminar el recipiente.
- El exceso de orina en el frasco puede ser desechado en el inodoro.
- Una vez recogida la muestra, continuar la micción en el inodoro.
- Si la persona presenta dificultad para poder tomar la muestra, se recomienda que la persona que lo acompañe en la recolección debe realizar higiene de manos y utilizar guantes para evitar el riesgo de

contaminación. Al finalizar el procedimiento realizar nuevamente higiene de manos.

- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.



Procedimiento en mujeres

- Revisar la orden médica para la toma de urocultivo. Tener en cuenta que ésta debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Pruebas que el médico solicita (uroanálisis, gram de orina sin centrifugar, urocultivo, etc.)
 - Condiciones especiales para la toma de la muestra (primera orina de la mañana, orina aleatoria).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Indicar al paciente las instrucciones para la toma de muestra.
- Antes de iniciar el procedimiento, el paciente debe realizar higiene de manos.
- Con agua jabonosa, lavar el meato urinario y el vestíbulo vaginal. Deje secar por algunos segundos.
- Iniciar la micción en el inodoro. Al llegar a la porción media de la micción, recolectar la muestra en frasco estéril sin contaminar el recipiente.
- Una vez recogida la muestra, continuar la micción en el inodoro.
- Sí la persona presenta dificultad para poder tomar la muestra, se recomienda que la persona que lo acompañe en la recolección debe realizar higiene de manos y utilizar guantes para evitar el riesgo de contaminación. Al finalizar el procedimiento realizar nuevamente higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.

2.2.5.2. Toma de muestra obtenida a través de catéter transuretral

Después de la punción suprapúbica, la toma de muestra obtenida de catéter transuretral es el mejor método para obtener una muestra con un menor riesgo de contaminación; sin embargo, es un método invasivo que puede inocular bacterias en la vejiga y requiere personal entrenado para poder realizarlo. Por estas razones no es un procedimiento de rutina para la recolección de las muestras. (Wilson M, 2003)



Materiales

- Gasas estériles.
- Frasco recolector estéril de boca amplia y cierre a prueba de goteo (tapa rosca).
- Guantes estériles.
- Guantes no estériles.
- Sonda Nelaton (No 14 – 16 para adultos, No. 6 – 8 en niños).
- Mascarilla quirúrgica.
- Gafas de protección personal.
- Solución con base yodada.



Procedimiento

- El personal que realiza la toma de muestras de urocultivo debe ser personal idóneo con entrenamiento, actualización y seguimiento continuo de la técnica.
- Preparar los elementos para la toma de la muestra.
- Revisar la orden médica para la toma del urocultivo. Toda orden médica para la toma de urocultivo debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Pruebas que el médico solicita (uroanálisis, gram de orina sin centrifugar, urocultivo, etc.)
 - Condiciones especiales para la toma de la muestra (primera orina de la mañana, orina aleatoria).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.

- Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente o familiar el procedimiento a realizar.
- Revisar por medio de una lista de chequeo que todo el material que será utilizado se encuentra disponible y listo para realizar el procedimiento. Dejar sobre una mesa o bandeja a la cual se le haya realizado un proceso previo de limpieza y desinfección todos los materiales a utilizar garantizando el fácil acceso a ellos durante el procedimiento.
- Iniciar el procedimiento realizando higiene de manos.
- Utilizando guantes no estériles, realizar lavado de la región genital (glande, vestíbulo vaginal y región perineal) con una solución con base yodada. Después de terminar el lavado, retirar los guantes y descartarlos.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar guantes estériles para la realización del cateterismo vesical.
- En el hombre, coger el pene con firmeza con una mano dejando expuesto el glande y el meato urinario. Con la otra mano, tomar la sonda Nelaton evitando contaminarla.
- En la mujer, separar los labios mayores con los dedos de una mano y dejar expuesto el meato urinario. Con la otra mano, tomar la sonda Nelaton evitando contaminarla.
- Introducir la sonda a través del meato urinario hasta que se evidencie la salida de orina.
- Colocar el frasco recolector en el extremo distal de la sonda y tomar la muestra de orina inmediatamente después de insertar la sonda.
- Retirar cuidadosamente la sonda.
- Cerrar el frasco recolector teniendo cuidado de no contaminar la muestra.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.2.5.3. Toma de muestra de orina utilizando bolsa de recolección

Este procedimiento puede tener una muy alta sensibilidad, pero una baja especificidad (14 – 48%); esta última es debida a la alta tasa de contaminación durante el procedimiento lo cual genera dificultades diagnósticas e incertidumbre para el médico tratante (Perlhagen Markus, 2007) además de un alto costo por la necesidad de repetir la prueba si se tiene sospecha de contaminación; no obstante, un resultado negativo descarta la enfermedad. Este procedimiento está orientado a población infantil que no controla esfínteres.



Materiales

- Soluciones con bases yodadas.
- Gasas estériles.
- Frasco recolector estéril de boca amplia y cierre a prueba de goteo (tapa rosca).
- Bolsa de recolección estéril con banda adhesiva hipoalergénica.
- Guantes no estériles.



Procedimiento

- Explicar al acompañante el procedimiento.
- Revisar la orden médica para la toma de urocultivo, la cual debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Pruebas que el médico solicita (uroanálisis, gram de orina sin centrifugar, urocultivo, etc.).
 - Condiciones especiales para la toma de la muestra (primera orina de la mañana, orina aleatoria).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra se debe realizar higiene de manos.
- Separar las piernas del niño.

- Utilizando guantes no estériles, realizar lavado de la región genital (pene o vestíbulo vaginal, región perineal). Después de terminar el lavado, retirar los guantes y descartarlos.
 - Realizar higiene de manos.
 - Secar con gasas estériles retirando el exceso del antiséptico residual. No aplicar aceites, talcos u otra sustancia en el área preparada.
 - Retirar el papel protector de la banda adhesiva hipoalergénica de la bolsa de recolección.
 - En los niños, adherir firmemente la bolsa en la base del pene presionando las bandas sobre la piel del paciente.
 - En las niñas, estirar la piel de la región perineal para disminuir los pliegues. Presionar las bandas adhesivas firmemente a la piel alrededor de los genitales. Iniciar en el espacio que hay entre el ano y la vagina para evitar la contaminación de la muestra desde el área rectal.
 - Confirmar que no queden pliegues o espacios abiertos en la banda adhesiva.
 - Una vez se haya producido la micción del paciente, retirar la bolsa de recolección evitando contaminarla. Cuidadosamente, trasvasar la muestra a un frasco de boca ancha estéril.
 - Cerrar el frasco verificando que no se produzcan goteos y rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección
- NOTA:** Se debe realizar cambio de bolsa después de pasados quince minutos en caso que no se haya presentado micción.

2.2.5.4. Toma de muestra de orina por punción suprapúbica

La baja tasa de contaminación (0% a 7%) encontrada en los urocultivos obtenidos por punción suprapúbica, demuestran que esta técnica es el patrón de oro para la toma de muestras microbiológicas de orina en pacientes menores de dos años de edad. (Shidan Tosif, 2012). Este procedimiento está indicado en pacientes pediátricos especialmente cuando se requieren muestras confiables y rápidas antes de iniciar terapia antibiótica temprana. Este tipo de muestras siempre debe ser realizado por personal médico experimentado.



Materiales

- Gasas estériles.
- Solución con base yodada.
- Jeringa estéril de 3 ml con aguja calibre 22.
- Guantes estériles.
- Guantes no estériles.
- Gorro.
- Bata.
- Gafas de protección personal.



Procedimiento

- El procedimiento debe ser realizado por personal médico entrenado.
- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de urocultivo la cual debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Pruebas que el médico solicita (uroanálisis, gram de orina sin centrifugar, urocultivo, etc.).
 - Condiciones especiales para la toma de la muestra (primera orina de la mañana, orina aleatoria).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar a los acompañantes del paciente la razón por la cual se debe realizar el urocultivo por medio de punción suprapúbica.
- Alimentar al paciente 30 a 90 minutos antes de realizar el procedimiento.
- Colocar un pañal seco al paciente después de alimentarlo. Sí el pañal se humedece antes del procedimiento, éste debe ser suspendido.
- Colóquese el gorro, bata, gafas de protección personal y la mascarilla.

- Con ayuda de un asistente, sujetar al paciente en posición supina sobre una superficie plana y firme.
- Verificar que la vejiga se encuentra distendida antes de realizar el procedimiento.
- Realizar higiene de manos.
- Utilizando guantes no estériles, realizar lavado de la región abdominal inferior y genital (pene, vestíbulo vaginal) utilizando soluciones con bases yodadas.
- Después de terminar el lavado, retirar los guantes y descartarlos.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar guantes estériles para realizar el procedimiento.
- Con el dedo índice de la mano libre, palpar la sínfisis púbica del paciente e identificar el punto de punción en la línea media 1 a 2 cm por encima de la sínfisis. El pliegue cutáneo transversal que se forma sobre la sínfisis púbica puede ser un excelente punto de referencia.
- Insertar la jeringa en dirección al fundus de la vejiga, con un ángulo de 0° a 30° sobre la perpendicular. Avanzar la aguja de 1,5 a 2 cm y empezar a aspirar la orina.
- Una vez llena la jeringa, retirar la aguja del paciente. Aplicar presión sobre la piel del paciente para controlar el sangrado cutáneo.
- Descartar la aguja y rotular inmediatamente la jeringa con el nombre y número de identificación del paciente.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

Precauciones y complicaciones

- Realizar el procedimiento en un solo intento.
- Nunca realizar la punción si la vejiga no se encuentra distendida o la vejiga se encuentra vacía.
- Se puede presentar hematuria transitoria entre 0,6% y 3,4% de los procedimientos.
- Otras complicaciones raras pueden ser perforación intestinal o hematoma vesical.

2.2.6 Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio

Siempre los frascos recolectores deben ser estériles de boca ancha y de tapa rosca para asegurar el cierre hermético de los frascos y evitar goteos. Las muestras deben ser rotuladas con el nombre y número de identificación del paciente, así como la fecha y hora de la recolección. Idealmente, las muestras deben ser transportadas inmediatamente al laboratorio clínico. Sin embargo, si esto no es posible, preservar los especímenes refrigerándolos entre 2°C y 8°C por máximo 24 horas.

En la actualidad existen algunos conservantes bacteriostáticos los cuales permiten preservar las muestras sin necesidad de refrigeración. Consultar en el laboratorio clínico la disponibilidad de estos preservantes antes de tomar la muestra.

Bibliografía

1. Perlhagen M, et al. Evaluating the specificity of a new type of urine collection bag for infants. *J Pediatr Urol* 2007; 3(5): 378-81.
2. Shrestha R, et al. Effect of urogenital cleaning with paper soap on bacterial contamination rate while collecting midstream urine specimens. *J Lab Physicians* 2013; 5(1): 17-20.
3. Stamm W, et al. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis* 2001; 183(Suppl1): S1-4.
4. Wilson ML, et al. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clin Infect Dis* 2004; 38(8): 1150-8.
5. Ochoa Sangrador C, et al. Sample collection methods for urine culture and analysis. *An Pediatr (Barc)* 2007; 67(5): 442-9.
6. Downson SM. Technical report: urinary tract infections in febrile infants and young children. The Urinary Tract Subcommittee of the American Academy of Pediatrics Committee on Quality Improvement. *Pediatrics* 1999; 103(4): 54.
7. Akierman AR. Suprapubic bladder aspiration in neonates. *Can Fam Physician* 1987; 33: 2099-100.
8. Tosif S, et al. Contamination rates of different urine collection methods for the diagnosis of urinary tract infections in young children: an observational cohort study. *J Pediatric Child Health* 2012; 48(8): 659-64.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI). *Urinalysis. Approved Guideline. Third Edition. CLSI document GP16-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009.*



2.3 Procedimiento para la toma de muestras del tracto respiratorio superior e inferior

2.3.1 Objetivo y principios generales

Históricamente, durante el primer trimestre del año se presenta el primer pico estacional de enfermedad respiratoria aguda en Bogotá. Lo anterior se debe a que son enfermedades fácilmente transmisibles a través del aire por gotas de saliva, al toser, al estornudar, hablar o por contacto directo a través de las manos. Los grupos con mayor vulnerabilidad son los pacientes menores de 2 años, mayores de 65 años de edad, mujeres gestantes y pacientes con condiciones clínicas predisponentes. (Alcaldía Mayor de Bogotá, 2013)

Las enfermedades respiratorias se pueden dividir en dos tipos: las del tracto respiratorio superior y las del tracto respiratorio inferior. Las primeras habitualmente comprometen los oídos, las mucosas de la cavidad nasal y la faringe hasta por encima de la epiglotis. Los principales agentes etiológicos de las enfermedades del tracto respiratorio superior son los virus, como el virus sincitial respiratorio, el virus de la influenza y adenovirus, entre otros; los principales agentes bacterianos responsables de las enfermedades del tracto respiratorio superior dependerán de la localización de la infección como por ejemplo *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* en otitis media y sinusitis aguda y *Streptococcus pyogenes* en faringitis bacteriana. Recientemente la utilización inadecuada de antibióticos para el tratamiento de infecciones virales, ha incrementado la tasa de resistencia bacteriana. (E Baron, 2013; 57)

Habitualmente, los especímenes utilizados con mayor frecuencia en las infecciones del tracto respiratorio superior incluyen los hisopados faríngeos, los hisopados o lavados nasofaríngeos, los hisopados de la cavidad oral. La utilización de los aspirados de oído medio y de senos

paranasales son utilizados infrecuentemente debido a que la terapia antibiótica utilizada es efectiva en la mayoría de los casos sin confirmación etiológica con cultivo y además requieren que se tomen por un especialista y pueden contaminarse con facilidad (P Murray, 2010). No se recomienda la utilización de hisopados para otitis media y sinusitis (E Baron, 2013; 57). Ocasionalmente se pueden tomar muestras de la fosas nasales para estudios moleculares en tamizajes epidemiológico para *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (L Raka, 2012).

En el caso de las infecciones del tracto respiratorio inferior, anualmente son responsables del 5 a 10% de las muertes reportadas al CDC en los Estados Unidos (S Campbell, 2011). Con el mejoramiento de las técnicas de detección de los microorganismos, cada vez es mayor la lista de agentes etiológicos responsables del desarrollo de enfermedades respiratorias como son la bronquítis, la bronquiolitis, la neumonía adquirida en la comunidad, la neumonía asociada a ventilador y las infecciones pulmonares asociadas a inmunosupresión, entre otras.(E Baron, 2013; 57).

Los especímenes que con mayor frecuencia son utilizados para poder identificar los microorganismos que producen las enfermedades del tracto respiratorio inferior, son el esputo, el esputo inducido, el aspirado traqueal, el lavado bronquial y el lavado broncoalveolar. La adecuada toma de las muestras del tracto respiratorio inferior será fundamental para la posterior interpretación y la toma de decisiones por parte de los médicos tratantes.

Teniendo en cuenta lo anterior, el propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la recuperación de microorganismos patógenos de especímenes del tracto respiratorio superior e inferior.

2.3.2 Definiciones

- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.
- **Desinfectante:** Sustancia que reduce la concentración de bacterias, hongos o virus en una superficie.
- **Falso Positivo:** Resultado positivo de una prueba diagnóstica cuando la enfermedad o la condición no se encuentra presente.

- **Verdadero Positivo:** Resultado positivo de una prueba diagnóstica para una enfermedad cuando la enfermedad o la condición se encuentra presente.
- **Especificidad:** Probabilidad que el cultivo no muestre crecimiento si la infección está ausente.
- **Sensibilidad:** Probabilidad que el cultivo muestre crecimiento si la infección está presente.
- **Hisopo:** Instrumento utilizado para la recolección de muestras el cual tiene forma de bastoncillo acabado en uno de sus extremos en una punta de algodón, rayón o dacrón. Para la toma de muestras microbiológicas no se recomienda utilizar hisopos de algodón o que contengan alginato de calcio, los cuales pueden contener inhibidores de los ensayos moleculares o inactivar los virus antes de su detección en el laboratorio
- **Sonda:** Tubo hueco de plástico utilizado para succionar secreciones respiratorias durante terapia respiratoria o en la toma de muestras por aspirado nasofaríngeo

2.3.3 Condiciones para la toma de la muestra

Las muestras del tracto respiratorio deben ser recolectadas tan pronto sea posible, antes del inicio de la terapia con antibióticos. La posibilidad de recuperar los virus y las bacterias disminuye significativamente después de 72 horas de iniciados los síntomas de la enfermedad y después de iniciar la terapia con antibióticos. Se debe seleccionar el tipo de espécimen dependiendo del contexto del paciente y la sospecha clínica del médico.

2.3.4 Precauciones de bioseguridad

Seguir las condiciones de bioseguridad estándar para la toma de muestras biológicas.

2.3.5 Instrucciones para la toma de muestras del tracto respiratorio

La adecuada toma de muestras del tracto respiratorio es fundamental para el aislamiento de los agentes etiológicos. Se debe tener en cuenta

que si se requieren pruebas de biología molecular, no se deben utilizar hisopos con alginato de calcio porque pueden alterar la fase analítica de la prueba. Por otra parte, en sospecha de infección por Bordetella pertussis u otro tipo de germen fastidioso, se recomienda contactar previamente al laboratorio para recibir instrucciones específicas para la toma de la muestra.

2.3.5.1. Toma de muestra a través de hisopado de fosas nasales

Utilizado principalmente para la detección de hongos y/o Staphylococcus aureus meticilino resistente por medio de cultivo o estudios de reacción en cadena de la polimerasa. Habitualmente son utilizados en estudios para tamizaje epidemiológico. Un resultado positivo es considerado como colonización por la bacteria.



Materiales

- Dos escobillones de dacrón o rayón.
- Solución salina al 0,9%
- Dos tubos con medio de transporte.
- Guantes no estériles.
- Gafas de protección personal.
- Mascarilla.



Procedimiento

- Revisar la orden médica para la toma de muestras del tracto respiratorio, ésta debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Colocar gafas, mascarilla y guantes.
- Humedecer con solución salina los hisopos.
- Con la mano libre, llevar hacia atrás la cabeza del paciente; con la otra mano, introducir el hisopo humedecido 1 a 2 cm en la cavidad nasal y rotarlo cuidadosamente contra la mucosa nasal por un lapso de 10 a 15 segundos. (L Raka, 2012) (P Murray, 2010)
- Colocar el hisopo en el tubo con el medio de transporte.
- Repetir el procedimiento en la fosa nasal contra lateral.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.3.5.2 Toma de muestra obtenida a través de hisopado nasofaríngeo

El hisopado nasofaríngeo se utiliza para cultivos bacterianos, estudios moleculares para detección de virus y estudios de inmunofluorescencia para detección de agentes respiratorios. En el caso de agentes virales, este método tiene una alta especificidad, pero la sensibilidad depende del tipo de técnica diagnóstica utilizada.



Materiales

- Dos escobillones de dacrón o rayón.
- Solución salina al 0,9%
- Dos tubos con medio de transporte.
- Guantes no estériles.
- Gafas de protección personal.
- Mascarilla.



Procedimiento

- Revisar la orden médica para la toma de muestras la cual debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Antes de acercarse al entorno del paciente, para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- El procedimiento puede producir tos o estornudos en el paciente, por lo tanto, se debe utilizar todos los elementos de protección personal incluyendo tapabocas, gafas de protección o carilla (L Raka, 2012) y guantes.
- Humedecer con solución salina los hisopos.
- Con la mano libre, llevar hacia atrás la cabeza del paciente y con la otra mano, introducir el hisopo humedecido a través de los orificios nasales, paralelo al paladar (no hacía arriba), hasta que se encuentra resistencia o la distancia equivalente desde la fosa nasal hasta la oreja. En este punto se encuentra la punta en la nasofaringe.
- Rotar suavemente el hisopo por 5 segundos y luego retirar lentamente, permitiendo que se absorban las secreciones en el hisopo. (L Raka, 2012) (K O'Brien, 2003)
- Colocar el hisopo en el tubo con el medio de transporte.
- Repetir el procedimiento en la fosa nasal contra lateral.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.3.5.3. Toma de la muestra obtenida a través de aspirado nasofaríngeo



Materiales

- Guantes no estériles.
- Gafas de protección personal.
- Mascarilla.
- 2 tubos de recolección con 1mL de medio de transporte MTV-VR (solicitar en laboratorio de salud pública).
- Sonda calibre 8.
- Jeringa de 5 mL.
- Solución salina isotónica al 0,9%
- Gasas estériles.
- Alcohol isopropílico al 70%



Procedimiento

- Revisar la orden médica para la toma de muestras del tracto respiratorio a partir de aspirado nasofaríngeo. Ésta debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar el aspirado nasofaríngeo se debe realizar lavado de manos clínico.
- El procedimiento puede producir tos o estornudos en el paciente, por lo tanto, se debe utilizar todos los elementos de protección personal incluyendo tapabocas, gafas de protección o carilla (L Raka, 2012) y guantes.

- Con la mano libre, llevar hacia atrás la cabeza del paciente e introducir 1 a 2 mL de solución salina estéril (pH 7,0) en una de las ventanas nasales utilizando la jeringa unida a la sonda.
- Introducir la sonda con 2 a 3 mL de solución salina a través de un orificio nasal, paralelo al paladar (no hacia arriba)
- Aspirar la muestra hasta obtener el mayor volumen posible en el interior de la jeringa; allí se debe evidenciar que la solución salina este turbia, lo cual garantiza que las secreciones han sido recolectadas correctamente. (Alcaldía Mayor de Bogotá, 2013)
- Retirar la sonda cuidadosamente de la fosa nasal.
- Sin retirar la sonda de la jeringa, succionar cuidadosamente 2 ml de MTV-VR asegurando que la sonda quede lo más limpia posible.
- Retirar la sonda de la jeringa, tapar la jeringa con la funda protectora y agitar vigorosamente la jeringa para garantizar una correcta homogenización de la muestra evitando salpicaduras.
- Transferir volúmenes iguales a los dos tubos de transporte que contenían el MTV-VR.
- Tapar firmemente el tubo de recolección y limpiar su exterior exhaustivamente con ayuda de una gasa humedecida con alcohol isopropílico al 70%.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.3.5.4. Toma de muestra a través de hisopado faríngeo

El hisopado faríngeo se utiliza para cultivos bacterianos esencialmente para la búsqueda de *Streptococcus pyogenes*. Sin embargo, también es utilizado en la búsqueda de *Corynebacterium diphtheriae* y *Neisseria*. La detección de levaduras y hongos es generalmente restringida a la evaluación microscópica de la coloración de Gram. (P Murray, 2010)



Materiales

- Dos escobillones de dacrón o rayón.
- Solución salina al 0,9%
- Dos tubos con medio de transporte.
- Guantes no estériles.

- Gafas de protección personal.
- Mascarilla o carilla.
- Bata.



Procedimiento

- Revisar la orden médica para la toma de muestras la cual debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra se debe realizar lavado de manos.
- El procedimiento puede producir tos o inducir vómito en el paciente, por lo tanto, se debe utilizar todos los elementos de protección personal incluyendo tapabocas, gafas de protección o carilla, guantes y bata.
- Con la mano libre, llevar hacia atrás la cabeza del paciente y pedirle que abra la boca; con ayuda de un bajalenguas, presionar la lengua hacia abajo para facilitar la visualización de la faringe y evitar la contaminación del hisopo.
- Evitando tocar la lengua, los dientes o las encías, ingresar el hisopo hasta la faringe posterior y la región amigdalina. Frotar el hisopo contra las paredes amigdalinas y la orofaringe posterior.
- Retirar el hisopo de la boca y colocarlo inmediatamente en el tubo con el medio de transporte.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.3.5.5 Toma de muestra de esputo

Teniendo en cuenta la facilidad para la obtención de la muestra de esputo, esta técnica es ampliamente utilizada en los pacientes no complicados para orientar adecuadamente el diagnóstico clínico. El éxito de la obtención de la muestra de esputo radica en la adecuada educación que el personal de salud le suministre al paciente para obtener muestras representativas y disminuir al máximo la contaminación con secreciones orales. Su interpretación siempre debe ser realizada en conjunto con otras ayudas diagnósticas como la historia clínica, las imágenes radiológicas y otros estudios microbiológicos realizados. (L Raka, 2012).



Materiales

- Frasco estéril de boca ancha y tapa rosca
- Guantes no estériles



Procedimiento

- Revisar la información de la orden médica la cual debe incluir:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente la diferencia entre la muestra de esputo y las secreciones orales.
- Indicar al paciente que debe realizar higiene de manos.
- Indicar al paciente que antes de tomar la muestra, debe realizar previamente un lavado de la cavidad oral con agua para disminuir el exceso de flora bacteriana. (P Murray, 2010)
- Explicar al paciente que debe toser profundamente para movilizar las secreciones del tracto respiratorio inferior.
- Indicar al paciente que expectore y el esputo generado recogerlo en el frasco estéril.
- Cerrar el frasco inmediatamente verificando que no se encuentre contaminado con secreciones en la superficie externa.

- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

Recomendaciones a tener en cuenta

- Para el estudio de micobacterias se deben obtener tres (3) muestras seriadas. Consultar la guía de atención de la tuberculosis pulmonar. Ministerio de la Protección Social.
- Las muestras se pueden obtener en cualquier momento del curso clínico de la enfermedad, pero se recomienda que sean tomada antes del inicio de la terapia antibacteriana.
- La presencia de abundantes células epiteliales es un fuerte indicador de contaminación con flora bacteriana oral. Un espécimen contaminado no puede ser aceptado para cultivos bacterianos de rutina, pero si pueden ser tenidos en cuenta para cultivos de micobacterias.
- Una muestra adecuada para realizar el cultivo debe ser representativa de la vía aérea inferior (contener menos de 10 células epiteliales y más de 25 polimorfonucleares por campo de bajo poder).

2.3.5.6. Toma de muestras de esputo inducido

La toma de muestras de esputo inducido con nebulizaciones con solución salina al 0,9% se encuentra indicada en pacientes con dificultad para obtener la muestra por expectoración.



Materiales

- Frasco estéril de boca ancha y tapa rosca.
- Equipo de nebulizaciones.
- Solución salina normal al 0,9%



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra se debe realizar higiene de manos.

- Revisar la orden médica teniendo en cuenta que la información contenida allí debe incluir:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar cuidadosamente al paciente el procedimiento.
- Realizar nebulización con 3 mL de solución salina normal al 0,9% al paciente.
- Explicar al paciente que debe toser profundamente para movilizar las secreciones del tracto respiratorio inferior.
- Indicar al paciente que expectore y el esputo generado recogerlo en el frasco estéril.
- Cerrar el frasco inmediatamente verificando que no se encuentre contaminado con secreciones en la superficie externa.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

Recomendaciones a tener en cuenta

- Para el estudio de micobacterias se deben obtener tres (3) muestras seriadas.
- Las muestras se pueden obtener en cualquier momento del curso clínico de la enfermedad, pero se recomienda que sea tomada antes del inicio de la terapia antibacteriana.
- A diferencia del esputo obtenido por expectoración, el esputo inducido puede tener contaminación por abundantes células epiteliales y bacterias de la cavidad oral. El espécimen debe ser procesado para bacterias a pesar de la contaminación de la cavidad oral.
- El esputo inducido debe realizarse en una habitación individual con adecuada aireación para evitar el riesgo generado por la aerolización de las micobacterias.

2.3.5.7. Toma de muestras de aspirado traqueal

El aspirado traqueal es utilizado como una estrategia para determinar el agente etiológico en pacientes con neumonía. La contaminación de las muestras con microorganismos de la cavidad oral puede ser muy frecuente. Siempre se debe recordar que las muestras de aspirados traqueales, deben ser cultivados a pesar de la presencia de células epiteliales en el extendido (P Murray, 2010). El extendido del aspirado traqueal, en ausencia de células inflamatorias y la negatividad del cultivo para gérmenes comunes, tiene un alto valor predictivo negativo (E Baron, 2013; 57).



Materiales

- Guantes estériles.
- Bata estéril.
- Tapabocas y gafas de protección o mascarilla con protección ocular.
- Sonda Nelaton.
- Gasas estériles.
- Frasco estéril de boca ancha y tapa rosca.
- Hoja de bisturí.
- Solución salina normal al 0,9%



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de muestras de aspirado traqueal, ésta debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere (gérmenes comunes, micobacterias, hongos).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Colocarse tapabocas y gafas de protección o mascarilla con protección ocular.

- Colocarse bata y guantes estériles.
- Introducir la sonda Nelaton hasta la cavidad traqueal a través del tubo endotraqueal o del orificio de la traqueostomía.
- Conectar el succionador al extremo distal de la sonda y aspirar cuidadosamente el contenido de la cavidad traqueal.
- Retirar lentamente la sonda teniendo siempre ocluido el orificio distal de la sonda o conectando el succionador a la sonda. Con una gasa estéril, limpiar la superficie externa de la sonda.
- Colocar el extremo proximal de la sonda en el frasco estéril. Con la hoja de bisturí, cortar el extremo distal de la sonda, garantizando el vaciamiento del contenido de la sonda dentro del contenedor.
- Cerrar el frasco inmediatamente verificando que no se encuentre contaminado con secreciones en la superficie externa.
- Una vez terminado el proceso retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.3.5.8. Toma de muestras de lavado broncoalveolar, cepillado bronquial y lavado bronquial

El lavado broncoalveolar, el cepillado bronquial y el lavado bronquial se encuentran indicados en diferentes patologías de acuerdo a la sospecha clínica o en casos donde el esputo no ha sido conclusivo y se continua con sospecha de infección bacteriana, fúngica o viral (incluido *Pneumocystis jirovecii*.) del tracto respiratorio inferior o del parénquima pulmonar. (L Raka, 2012).

Las muestras del lavado broncoalveolar son las ideales para la realización de cultivos, estudios citopatológicos y pruebas de biología molecular. Por medio del fibrobroncoscopio, se puede obtener lavado broncoalveolar del segmento pulmonar deseado, instilando 300 a 350 mL de solución salina normal (0,9%) en alícuotas de 50 mL, que posteriormente serán aspirados y recogidos en un frasco estéril de boca ancha. (L Raka, 2012)

La realización de la Fibrobroncoscopia requiere de habilidades técnicas y recursos tecnológicos que hacen que sea un procedimiento realizado

por el médico especialista con entrenamiento en procedimientos endoscópicos. Por la complejidad técnica de la toma de la muestra, los detalles técnicos del procedimiento se encuentran fuera del alcance del presente manual.

2.3.6. Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio

Recordar que siempre los hisopos y las sondas deben ser recolectados en tubos estériles con medios de transporte sin antibióticos. Las muestras de secreciones, lavados y expectoraciones deben ser recogidas en frascos estériles de boca ancha. El rótulo de cada espécimen debe incluir el nombre del paciente, el número de identificación, el tipo de espécimen y la fecha de recolección.

El transporte de las muestras hasta el laboratorio debe realizarse lo más pronto posible, idealmente dentro de las dos primeras horas después de tomadas las muestras manteniéndose a temperatura ambiente (L Raka, 2012). Sí esto no es posible, las muestras deben ser refrigeradas inmediatamente después de ser tomada, en una temperatura entre los 4°C y los 8°C por un máximo de 48 horas. Si el tiempo de procesamiento de la muestra será mayor a 48 horas, la muestra puede ser congelada por 2 meses a -20°C o por 6 meses a -70°C. (Alcaldía Mayor de Bogotá, 2013). La viabilidad de algunos microorganismos como el virus sincitial respiratorio, se puede ver afectada por el proceso de congelación, aumentando la posibilidad de falsos negativos.

Bibliografía

1. Alcaldía Mayor de Bogotá. Circular 003. Alerta epidemiológica preventiva por aumento en la actividad de influenza en Estados Unidos, inicio de temporada escolar y por la preparación del primer pico endémico de la enfermedad respiratoria aguda año 2013.
2. Center for Disease control and prevention. How to investigate unexplained respiratory disease outbreaks (URDO). [Online]. 2013 [cited 2014 03 01. Available from: HYPERLINK "<http://emergency.cdc.gov/urdo/pdf/SpecCollectionGuidelines.pdf>" <http://emergency.cdc.gov/urdo/pdf/SpecCollectionGuidelines.pdf>.

3. Coordinación redes de salud. Recomendaciones para toma de muestras microbiológicas. 2011.
4. Baron EJ, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) (a). Clin Infect Dis. 2013; 57(4): 22-121.
5. Instituto Nacional de Salud. Protocolo de vigilancia y control de infección respiratoria aguda. 2012.
6. O'Brien KL, et al. Report from a WHO Working Group: standard method for detecting upper respiratory carriage of *Streptococcus pneumoniae*. Pediatr Infect Dis J. 2003; 22(2):1-11.
7. Raka L. Specimen collection and transport. In Kulich DTP. The Infection Preventionist's Guide to the Lab. Washington D.C.: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, APIC; 2012. p. 1-18.
8. Murray P. The Clinician and the Microbiology Laboratory. In Mandell JBG. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases: Churchill Livingstone; 2010. p. 233-62.
9. Ministerio de Salud, Republica de Colombia. Guia de atencion de la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. [Online]. [cited 2014 10 1. Available from: HYPERLINK http://www.col.ops-oms.org/prevencion/tuberculosis/guia_tuberculosis.pdf.



2.4 Procedimiento para la toma de muestras de líquidos corporales estériles

2.4.1 Objetivo y principios generales

Los líquidos corporales estériles corresponden a los líquidos que se generan en las diferentes cavidades corporales las cuales se encuentran completamente aisladas del medio externo y las cuales pueden ser alcanzadas por microorganismos por medio de la inoculación directa (trauma, iatrogenia), infección a través del torrente sanguíneo o infección de los tejidos adyacentes.

La toma de las muestras obtenidas a través de las cavidades corporales, es un procedimiento invasivo susceptible de complicaciones. El procedimiento debe ser realizado exclusivamente por personal médico entrenado.

El propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la recuperación de microorganismos patógenos presentes en líquidos estériles.

2.4.2 Definiciones

- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.
- **Desinfectante:** Sustancia que reduce la concentración de bacterias, hongos o virus en una superficie.
- **Especificidad:** Probabilidad que el cultivo no muestre crecimiento si la infección está ausente.

- **Sensibilidad:** Probabilidad que el cultivo muestre crecimiento si la infección está presente.
- **Artrocentesis:** Aspiración aséptica de líquido ubicado en la cavidad articular.
- **Toracocentesis:** Aspiración aséptica de líquido alojado en la cavidad pleural.
- **Paracentesis:** Aspiración aséptica de líquido alojado en la cavidad abdominal.
- **Agente Contaminante:** Microorganismo aislado de un cultivo, el cual fue introducido dentro del cultivo durante la toma de la muestra o el procesamiento del cultivo, razón por la cual no se considera como agente etiológico.
- **Aislamiento Indeterminado:** Microorganismo clínico aislado cuya importancia clínica no se encuentra establecida.

2.4.3 Condiciones para la toma de la muestra

Las muestras procedentes de cavidades corporales aisladas del medio externo, deben ser recolectadas y llevadas al laboratorio para su procesamiento tan pronto sea posible para garantizar la viabilidad de microorganismos de crecimiento difícil y evitar el sobrecrecimiento de bacterias contaminantes. La muestra debe ser tomada utilizando los materiales adecuados y tener los medios de transporte correctos para garantizar la supervivencia de los microorganismos y de esta manera aumentar la sensibilidad de las pruebas microbiológicas.

2.4.4 Precauciones de bioseguridad

Seguir las condiciones de bioseguridad estándar para la toma de muestras biológicas. Garantizar la utilización de gafas de protección, mascarilla y bata anti fluidos.

2.4.5 Instrucciones para la toma de muestras de líquidos de las cavidades corporales

2.4.5.1 Toma de muestra de efusiones de la cavidad pleural (Toracocentesis)

Las efusiones pleurales a menudo se encuentran acompañando neumonías bacterianas. Cerca del 17% de las neumonías adquiridas en la comunidad se encuentran asociadas a efusiones pleurales, principalmente en aquellos pacientes que no respondieron a terapia antimicrobiana temprana. La toracocentesis es un procedimiento diagnóstico y en algunas ocasiones terapéutico. La señalización del sitio de punción por ecografía permite disminuir la posibilidad de complicaciones asociadas al procedimiento. El procedimiento siempre debe ser realizado por personal médico experimentado. (Daniels C, 2011)



Materiales

- Solución de Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%.
- Soluciones con bases yodadas.
- Gasas estériles.
- Jeringa estéril de 20 mL.
- Aguja.
- Tubo estéril seco para cultivos.
- Tubo estéril con citrato de sodio para ADA (adenosin deaminasa) y PCR para M.tuberculosis.
- Tubos estériles con anticoagulante para estudio citoquímico.
- Tubos estériles secos para estudio citológico y de bloque celular.
- Guantes estériles.
- Gorro.
- Gafas de protección personal.
- Mascarilla o carilla.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.

- Revisar la orden médica para la toma de este tipo de muestra, teniendo en cuenta que la misma debe incluir la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra a procesar
 - Tipo o tipos de cultivo que se requieren
 - Nombre del médico que ordena/realiza el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Solicitar la marcación del punto de punción por medio de ecografía de la cavidad pleural.
- Explicar al paciente y/o acompañantes el procedimiento y solicitar su colaboración.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Ubicar al paciente en posición sentada.
- Preparar los elementos que se utilizarán durante el procedimiento.
- Colocar gafas de protección personal, mascarilla o carilla.
- Realizar higiene de manos.
- Dejar descubierta el área del procedimiento y con guantes no estériles y Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70% realizar asepsia y antisepsia del área de punción. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones yodadas.
- Retirar guantes y desechar, realizar higiene de manos y colocar guantes estériles.
- Con jeringa y aguja estéril de 20 mL, sobre el borde superior de la costilla marcada realizar punción perpendicularmente ingresando lentamente y aspirando hasta obtener salida del líquido pleural en el interior de la jeringa.
- Aspirar lentamente hasta llenar la jeringa, desprender ésta de la aguja e inocular en los tubos estériles el líquido pleural para ser enviados al laboratorio. De acuerdo a los protocolos institucionales se pueden utilizar hemocultivos.
- Si el paciente presenta episodios de tos, suspender el procedimiento de acuerdo al criterio médico.
- Al terminar el procedimiento, retirar cuidadosamente la aguja y colocar gasa protectora sobre el sitio de punción.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.

- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.4.5.2. Toma de muestra de efusiones de la cavidad peritoneal (Paracentesis)

La paracentesis abdominal es el procedimiento mediante el cual se extrae líquido ascítico contenido en la cavidad peritoneal. Es una herramienta fundamental en el diagnóstico de la etiología de la ascitis o como medida terapéutica cuando el volumen de líquido ascítico es significativo (McGibbon A, 2007). Los estudios microbiológicos se encuentran indicados cuando se tiene sospecha de peritonitis primaria o secundaria; la positividad de los cultivos en presencia de un conteo elevado de PMN podría corresponder a un diagnóstico de peritonitis. (L Raka, 2012)



Materiales

- Guantes estériles.
- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%
- Solución con base yodada.
- Alcohol isopropílico al 70%
- Gasas estériles.
- Anestésico local (xilocaína al 1%).
- Jeringa estéril de 5 y 50 mL.
- Agujas estériles de calibre 18, calibre 25 y calibre 22.
- Tubo estéril seco para cultivos.
- Tubo estéril con anticoagulante para estudio citoquímico.
- Tubo estéril seco para estudio citológico y de bloque celular.
- Se pueden utilizar botellas de hemocultivo para inocular la muestra según protocolos institucionales.
- Tubo estéril para ADA si se sospecha tuberculosis.



Procedimiento para la toma de la muestra

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de muestra de cavidad peritoneal, teniendo en cuenta que en ella se debe incluir información como:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra a procesar
 - Tipo o tipos de cultivo que se requieren.
 - Nombre del médico que ordena/realiza el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acompañante el procedimiento y solicitar su colaboración.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Indicar al paciente que se ubique en una posición cómoda para el procedimiento. En posición supina cuando la acumulación de líquido en grandes cantidades, o en decúbito lateral cuando la acumulación sea menor.
- Preparar los elementos que se utilizarán durante el procedimiento. Limpiar con gasa humedecida con alcohol isopropílico al 70%, la tapa de la botella de hemocultivos, si se dispone de ésta.
- Percutir la pared abdominal para determinar el nivel de líquido ascítico en la cavidad. Habitualmente, el sitio de punción se localiza en los cuadrantes inferiores, 2 a 3 cm lateral al borde del músculo recto anterior; sin embargo, si se encuentra disponible, se recomienda utilizar ecografía para determinar el sitio correcto de la punción y disminuir el riesgo de complicaciones.
- Seleccionar y marcar el sitio de la punción.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Realizar asepsia y antisepsia con Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70% utilizando gasas estériles. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con bases yodadas.
- Retirar guantes y desechar, realizar higiene de manos y colocar guantes estériles.
- Con jeringa estéril de 5 mL y aguja estéril de calibre 25, administrar xilocaína al 1% en el tejido celular subcutáneo y los tejidos blandos del sitio de punción. Recordar siempre aspirar con la jeringa a medida que avanza la aguja en los tejidos blandos.

- Con jeringa estéril de 50 mL y aguja estéril calibre 22, ingresar con ángulo perpendicular a la piel del paciente en el sitio de punción. Ingrese lentamente a través de los tejidos blandos del paciente, aspirando con la jeringa a medida que avanza en los tejidos blandos. Con una mano puede generar tracción de la piel y los tejidos blandos para evitar fugas durante el procedimiento. Al ingresar a la cavidad peritoneal, la jeringa se llenará con fluido peritoneal.
- Continuar aspirando de 20 a 50 mL de líquido ascítico para los estudios citoquímico, microbiológico y citológico.
- Una vez obtenido el volumen de líquido necesario, retirar lentamente la aguja de la piel del paciente. Una vez retirada la aguja, suspender la tracción sobre la piel del paciente.
- Aplicar presión en el sitio de la punción con una gasa estéril, por un corto periodo de tiempo para evitar sangrado o fuga de líquido.
- Colocar un vendaje sobre el sitio de punción para terminar el procedimiento.
- Inocular en los tubos estériles y/o en las botellas de hemocultivo el líquido ascítico para ser enviados al laboratorio.

NOTA: La única contraindicación absoluta para la punción es la coagulación intravascular diseminada y la evidencia de fibrinólisis activa. Otras contraindicaciones relativas son el embarazo, distensión intestinal severa y cirugía abdominopélvica previa; en estos casos se recomienda hacer la paracentesis guiada por ecografía. Las complicaciones de la paracentesis incluyen sangrado, perforación visceral, infección local o peritonitis, y fuga persistente de líquido ascítico. (McGibbon A, 2007)

- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.4.5.3. Toma de muestra de efusiones de las cavidades articulares (Artrocentesis)

La artrocentesis es uno de los procedimientos que con mayor frecuencia se realiza en la práctica médica para el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades de la cavidad articular. La aspiración simple del exceso de líquido sinovial de la articulación puede explicar las causas de la enfermedad y ayudar en el tratamiento disminuyendo la presión intraarticular. La experiencia de la persona que realiza el procedimiento

es fundamental para evitar complicaciones o incomodidad en el paciente (Punzi L, 2009).

El sitio de la punción debe ser seleccionado dependiendo de la articulación en la cual se realizará el procedimiento. Al igual que otros procedimientos, si se encuentra disponible, se puede utilizar ecografía para indicar el sitio correcto de la punción (Punzi L C. M., 2007).



Materiales

- Guantes estériles.
- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%.
- Solución con base yodada.
- Gasas estériles.
- Anestésico local (xilocaína al 1%).
- Jeringa de 5 y 20 mL.
- Agujas estériles de calibre 21 (grandes articulaciones), calibre 23 o 25 (articulaciones pequeñas).
- Vendaje.
- Se puede utilizar botella de hemocultivo para microorganismos aerobios sí se dispone ellas o los protocolos establecidos por la institución así lo disponen.
- Tubo estéril seco para cultivos.
- Tubo estéril con anticoagulante para estudio citoquímico.
- Tubo estéril seco para estudio citológico y de bloque celular.



Procedimiento para la toma de la muestra

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de muestra, teniendo en cuenta que ésta debe contener información como:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra a procesar.
 - Tipo o tipos de cultivo que se requieren.
 - Nombre del médico que ordena/realiza el procedimiento.

- Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acompañante el procedimiento, solicitar su colaboración y autorización para poder avanzar en la toma de la muestra.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Indicar al paciente que se ubique en una posición cómoda para el procedimiento. La articulación se debe encontrar en reposo para realizar el procedimiento.
- Seleccionar y marcar el sitio de la punción. Si se considera necesario, seleccionar el punto de punción por medio de ecografía. El área seleccionada debe estar libre de lesiones cutáneas o signos de infección.
- Preparar los elementos que se utilizarán durante el procedimiento. Limpiar con gasa humedecida con alcohol isopropílico al 70%, la tapa de la botella de hemocultivos si se dispone de ésta.
- Realizar higiene de manos.
- Recordar siempre, utilizar técnica aséptica durante todo el procedimiento.
- Colocar elementos de protección personal y guantes estériles.
- Realizar asepsia y antisepsia con Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70% utilizando gasas estériles. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con bases yodadas.
- Idealmente no aplicar anestesia local; utilizar anestesia local en pacientes ansiosos o en pacientes pediátricos. En estos casos, con jeringa estéril de 5 mL y aguja estéril de calibre 25, administrar xilocaína al 1% en el tejido celular subcutáneo y los tejidos blandos del sitio de punción. Recordar siempre aspirar con la jeringa a medida que avanza la aguja en los tejidos blandos.
- Con jeringa estéril de 20 mL y aguja estéril calibre 21, ingresar con ángulo perpendicular a la piel del paciente en el sitio de punción. Ingresar lentamente a través de los tejidos blandos del paciente siguiendo la técnica específica para la articulación seleccionada, aspirar con la jeringa a medida que avanza en los tejidos blandos. Con la mano libre puede generar tracción sobre la piel para evitar fugas y facilitar el procedimiento. Al ingresar a la cavidad articular, la jeringa se llenará con fluido sinovial.

- Continuar aspirando de 20 a 50 mL de líquido sinovial para los estudios citoquímico, microbiológico y citológico. El flujo de líquido puede ser intermitente o detenerse por obstrucción temporal con bandas sinoviales, depósitos de fibrina, loculación del líquido sinovial, o desplazamiento de la aguja por fuera de la cavidad. Si esto ocurre, inyectar una pequeña cantidad del líquido en el interior de la cavidad y luego continuar con el procedimiento.
- Una vez obtenido el volumen de líquido necesario, retirar lentamente la aguja de la piel del paciente y dejar la tracción sobre la piel del paciente.
- Aplicar presión en el sitio de la punción con una gasa estéril, por un corto período de tiempo para evitar sangrado o fuga de líquido. Colocar vendaje de algodón y elástico sobre la articulación que fue intervenida.
- Colocar un vendaje sobre el sitio de punción para terminar el procedimiento.
- Inocular en los tubos estériles o en las botellas de hemocultivo el líquido articular para ser enviados al laboratorio.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

NOTA: Las complicaciones del procedimiento son relativamente escasas. El riesgo de infección es menor, pero existen casos reportados después del procedimiento (Courtney P, 2009)

2.4.5.4. Toma de muestra de la cavidad pericárdica (Pericardiocentesis)

La pericardiocentesis es un procedimiento diagnóstico que puede ser utilizado en la práctica clínica para el diagnóstico de presencia de líquido (sangre, líquido pericárdico, material purulento) en la cavidad pericárdica. En el diagnóstico microbiológico, cualquier crecimiento de un patógeno en los cultivos tiene significancia clínica. La realización de una pericardiocentesis, exige un estricto conocimiento de la anatomía torácica. Los errores durante el procedimiento pueden resultar en complicaciones severas que pueden poner en riesgo la vida del paciente.

La realización de este procedimiento debe estar en manos de personal experimentado e idealmente guiado por ecografía. (Loukas M, 2012)

2.4.5.5. Toma de muestra de Líquido Cefalorraquídeo - LCR (Punción Lumbar)

La punción lumbar es un procedimiento que se utiliza con mucha frecuencia en la práctica clínica. Las principales indicaciones diagnósticas incluyen las enfermedades infecciosas, enfermedades inflamatorias y neoplasias que comprometen el sistema nervioso central. También se encuentra indicado el procedimiento en la administración intratecal de anestésicos, antibióticos, quimioterápicos y antiespásticos. Por la complejidad y las posibles complicaciones, este tipo de procedimiento debe ser realizado por personal médico experimentado (Sempere A, 2007)



Materiales

- Guantes estériles.
- Vendaje.
- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%.
- Solución con base yodada.
- Gasas estériles.
- Jeringa estéril de 10 mL.
- Aguja estéril calibre 21 y calibre 25
- Aguja para punción lumbar (longitud 1,5 a 2,5 en pediatría y 3,5 para adultos).
- 3 o 4 Tubos estériles para la recolección de la muestra.
- Tubo para ADA y PCR para *Micobacterium tuberculosis*.



Procedimiento para la toma de la muestra

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de muestra de este tipo de líquido, teniendo en cuenta que ésta debe contener la siguiente información:

- Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo o tipos de cultivo que se requieren.
 - Nombre del médico que ordena/realiza el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acompañante el procedimiento, solicitar su colaboración y autorización para poder avanzar en la toma de la muestra.
 - Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
 - Indicar al paciente que se ubique en alguna de las dos siguientes posiciones:
 - En decúbito lateral izquierdo, el paciente debe flexionar las piernas y el cuello lo máximo posible sobre el pecho, pasando las manos sobre las rodillas.
 - Estando el paciente sentado sobre la camilla, solicitarle que arquee la espalda tratando de llevar su cabeza hasta las rodillas. Esta posición no permite medir la presión.
 - Para seleccionar el sitio de la punción, identificar los bordes superiores de las crestas ilíacas. En posición decúbito lateral, la línea vertical que une estas líneas se cruza perpendicularmente con la apófisis espinosa de la vértebra L4. Trazando una línea horizontal imaginaria, hacia la cabeza del paciente se encontrará el espacio intervertebral L3-L4 y hacia las piernas del paciente se encuentra el espacio intervertebral L4-L5. En cualquiera de los dos espacios se puede realizar la punción lumbar. Realizar el procedimiento a través de la línea media disminuye el riesgo de complicaciones vasculares. Marcar el punto de punción con un marcador.
 - Preparar los elementos que se utilizarán durante el procedimiento.
 - Realizar higiene de manos.
 - Recordar siempre, utilizar técnica aséptica durante todo el procedimiento.
 - Colocar elementos de protección personal y guantes estériles.
 - Realizar asepsia y antisepsia con Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70% utilizando gasas estériles. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con bases yodadas.
 - Con jeringa estéril de 5 mL y aguja estéril calibre 25, administrar xilocaína al 1% en el tejido celular subcutáneo y los tejidos blandos

del sitio de punción. Recordar siempre aspirar con la jeringa a medida que avanza la aguja en los tejidos blandos. Esperar 1 a 2 minutos mientras el anestésico hace efecto. Verificar que la piel se encuentra anestesiada.

- Con aguja para punción lumbar de calibre 22, para disminuir el riesgo de dolor de cabeza pos punción, introduzca lentamente la aguja a través del espacio intervertebral por la línea media con un ángulo de 15° en posición cefálica. La aguja debe traspasar la piel, el tejido celular subcutáneo, el ligamento supraespinoso, el ligamento interespinoso, ligamento amarillo, el espacio epidural, la duramadre, y la aracnoides antes de llegar al espacio subaracnoideo.
- Retirar cuidadosamente la guía del catéter y verificar la salida de LCR.
- Conectar con cuidado el manómetro y medir la presión de apertura del LCR
- Recolectar en los tubos estériles la cantidad de LCR necesaria para los estudios solicitados.
- Colocar nuevamente la guía en el catéter y cuidadosamente retirar la aguja.
- Cubrir el sitio de la punción con un vendaje estéril.
- Indicar al paciente que permanezca en reposo por una hora en decúbito.

NOTA: Habitualmente realizar una punción lumbar es un procedimiento seguro; sin embargo, se puede presentar cefalea y la lumbalgia pos punción. En otras ocasiones, se puede presentar trastornos ocasionados por cambios en la presión intracraneal como tracción de los nervios craneales, síncope vagal y herniación severa. (Sempere A, 2007)

- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.4.6 Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio

Todas las muestras, tubos y botellas recogidas deben ser rotulados con el nombre del paciente, el número de identificación, el tipo de espécimen, la fecha de recolección y el tipo de estudio a realizar.

El transporte de las muestras hasta el laboratorio debe realizarse lo más pronto posible, idealmente dentro de los primeros 15 minutos y máximo dos horas después de tomadas las muestras manteniéndose a temperatura ambiente (L Raka, 2012). La orden médica debe incluir la totalidad de las pruebas solicitadas para el procedimiento. Por la dificultad para la recolección de estas muestras, se deben tomar acciones encaminadas a disminuir el riesgo de errores preanalíticos en el laboratorio.

Bibliografía

1. Courtney P, et al. Joint aspiration and injection and synovial fluid analysis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2009 ; 23(2): 161-92.
2. Daniels CE, et al. Improving the safety of thoracentesis. *Curr Opin Pulm Med* 2011; 17(4): 232-6.
3. Baron EJ, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a). *Clin Infect Dis*. 2013 Aug; 57(4): p. e22-121.
4. Raka L. Specimen collection and transport. In Kulich DTP. *The Infection Preventionist's Guide to the Lab*. Washington D.C.: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, APIC; 2012. p. 1-18.
5. Loukas M, et al. Pericardiocentesis: a clinical anatomy review. *Clin Anat* 2012; 25(7): 872-81.
6. McGibbon A, et al. An evidence-based manual for abdominal paracentesis. *Dig Dis Sci* 2007; 52(12): 3307-15.
7. Murray P. The Clinician and the Microbiology Laboratory. In Mandell JBG. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Churchill Livingstone; 2010. p. 233-62.
8. Punzi L, et al. Italian Society of Rheumatology (SIR) recommendations for performing arthrocentesis. *Reumatism* 2007; 59(3): 227-34.

9. Punzi L, et al. Arthrocentesis and synovial fluid analysis in clinical practice: value of sonography in difficult cases. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1154: 152-8.
10. Sempere AP, et al. Lumbar puncture: its indications, contraindications, complications and technique. *Rev Neurol* 2007; 45(7): 433-6.
11. Wright BL, et al. Cerebrospinal fluid and lumbar puncture: a practical review. *J Neurol*. 2012 ; 259(8): 1530-45.



2.5 Procedimiento para la toma de muestras de piel y tejidos blandos

2.5.1 Objetivo y principios generales

Las infecciones que comprometen la piel y los tejidos blandos, son aquellas que incluyen toda la piel, los anexos cutáneos, el tejido celular subcutáneo, las fascias y el músculo estriado. En conjunto con las infecciones respiratorias, las infecciones de la piel y los tejidos blandos son las más frecuentes en los seres humanos (Cercenado E, 2006).

La pérdida de la integridad de la piel favorece la colonización del tejido celular subcutáneo y se convierte en un microambiente nutritivo y caliente para la colonización y proliferación de microorganismos. Las características de la herida (profundidad, localización, calidad de la piel, nivel de perfusión tisular) y del paciente (calidad de la respuesta inmune), definirán la progresión de la infección y el posterior pronóstico (P. G. Bowler, 2001).

Son diferentes las controversias que existen al respecto de los mecanismos de infección y la importancia del tiempo en los procesos de colonización de las bacterias. Dentro del mismo debate se encuentra sí todas las muestras deben ser sometidas a cultivo, o sí se debe tomar muestra de cada lesión para poder identificar la causa de la infección (P. G. Bowler, 2001). Al respecto, se considera que la mayoría de los casos deben diagnosticarse clínicamente; sin embargo, algunos casos difíciles (paciente inmunosuprimido, resistencia al tratamiento y pobre respuesta cicatrizal) requieren de la búsqueda activa del agente etiológico en el laboratorio de microbiología. (Cercenado E, 2006)

Los agentes que se encuentran dentro de la flora microbiana normal de la piel son el *Corynebacterium spp*, estafilococos coagulasa negativo,

Micrococcus spp y *Aerococcus spp*, entre otros. Por otra parte, se consideran patógenos los estreptococos beta hemolíticos, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, *Bacilos anthracis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Las bacterias anaerobias (*Bacterioides spp*, *Prevotella spp*, entre otros), también son agentes etiológicos importantes porque se han relacionado con más del 38% de los casos (Cercenado E, 2006).

Teniendo en cuenta lo anterior, el propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la recuperación de microorganismos patógenos de especímenes de la piel y de los tejidos blandos.

2.5.2 Definiciones

- **Colonización microbiana:** Corresponde al acceso y proliferación de los microorganismos sin causar infección.
- **Infección de la herida quirúrgica:** Se define como la infección que ocurre a partir de la contaminación bacteriana causada por un procedimiento quirúrgico.
- **Infección aguda de tejidos blandos:** Corresponde a las infecciones que afectan la piel, los anexos cutáneos, el tejido celular subcutáneo, la fascia y el musculo esquelético. Un nombre más real corresponde a “infecciones de tejidos superficiales” (Cercenado E, 2006). Incluyen los abscesos cutáneos, heridas traumáticas y las infecciones necrotizantes.
- **Infecciones por mordeduras:** Infección que se genera en una herida producida por los dientes de un animal o de otra persona, a través de la maceración, perforación o laceración de los tejidos superficiales de los pacientes. Los agentes etiológicos más frecuentemente aislados, son *S. aureus*, *Peptostreptococcus sp*, *Bacterioides spp* y *Pasteurella multocida*.
- **Infección de una quemadura:** Se diagnóstica cuando aparecen cambios en la apariencia de la quemadura como áreas de decoloración local, edema en el margen de la herida o separación rápida de la escara.
- **Úlcera por presión:** Toda úlcera o lesión generada por una presión sostenida contra una superficie ósea o un plano firme, la cual puede causar fricción y cizallamiento responsable de la isquemia de los tejidos superficiales.
- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.

- **Especificidad:** Probabilidad que el cultivo no muestre crecimiento si la Infección está ausente.
- **Sensibilidad:** Probabilidad que el cultivo muestre crecimiento si la infección está presente.

2.5.3 Condiciones para la toma de la muestra

Idealmente, se deben tomar muestras antes de iniciar la terapia antibiótica empírica, de aquellas lesiones que presenten signos clínicos de infección (cambio de apariencia, pobre cicatrización) (Cercenado E, 2006). En caso de infecciones por quemaduras, las muestras deben ser obtenidas en los primeros días a semanas después de presentarse la lesión. La frecuencia de las muestras puede disminuir después de que la herida no tenga signos de infección (Church D, 2006).

2.5.4 Precauciones de Bioseguridad

Seguir las condiciones de bioseguridad estándar para la toma de muestras biológicas según protocolo institucional establecido.

2.5.5 Instrucciones para la toma de muestras de piel y tejidos blandos

Se podría definir que las muestras de piel y de tejidos blandos puede ser de dos tipos: tejidos de la herida y fluidos de la herida. Estos dos tipos de muestras son los mejores desde el punto de vista microbiológico porque permiten realizar estudios cuantitativos que serán fundamentales para decisiones terapéuticas (Cercenado E, 2006).

2.5.5.1. Toma de muestra de heridas cerradas

Esta técnica está indicada cuando clínicamente se identifica la presencia de colecciones líquidas en piel intacta. También se encuentra indicada en casos de heridas quirúrgicas o colecciones que se encuentran adyacentes a heridas abiertas cubiertas con detritus celulares. Si se realiza una estricta

técnica aséptica, la posibilidad de contaminación es significativamente baja (Church D, 2006).



Materiales

- Jeringa estéril de 5 mL.
- Solución salina al 0,9%
- Gasas estériles.
- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%.
- Solución con base yodada.
- Medios de transporte.
- Guantes estériles.
- Guantes no estériles-
- Bata desechable, tapabocas, mascarilla facial o gafas de protección.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para esta toma de muestras. Se debe tener en cuenta que la información contenida en la orden debe incluir:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra y la localización anatómica de la lesión.
 - Estudios microbiológicos solicitados (coloración de gram, cultivos de gérmenes comunes, anaerobios, micobacterias, hongos, etc.).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otro tipo de información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acompañante el procedimiento que se va a realizar.
- Con guantes no estériles, realizar asepsia y antisepsia de la piel y áreas circundantes con Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con base yodada.
- Retirar los guantes no estériles y realizar lavado de manos.

- Vestir los elementos de protección personal y utilizar guantes estériles.
- Seleccionar un área en la cual se encuentre la piel intacta y realizar la punción con la jeringa; una vez en el interior, aspirar el material.
- Una vez realizada la aspiración del material, retirar la aguja y la jeringa de la lesión.
- Eliminar el aire contenido en la jeringa.
- Si se dispone de medios para anaerobios, desinfectar el tapón del tubo contenedor con alcohol isopropílico al 70% y dejar secar e inocular parcialmente el contenido de la jeringa en el medio de transporte.
- Inocular el contenido de la jeringa en los medios de transporte requeridos para los diferentes cultivos solicitados en la orden médica.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.5.5.2. Toma de muestra de heridas abiertas

La toma de muestras para heridas abiertas con hisopos, sin ser el método más recomendado, su facilidad y baja invasividad, lo hacen un método conveniente para la mayoría de heridas abiertas. Su utilidad está cuestionada principalmente por dos razones: en primer lugar la técnica de asepsia y antisepsia de la piel antes de tomar la muestra; y en segundo lugar, porque se considera que la microbiota superficial es comensal y no es realmente la causante de la infección. Al respecto del segundo punto, cualquier microorganismo que se encuentra en la profundidad de la herida, posiblemente también se encontrará en la superficie, lo que explica la buena correlación entre los cultivos cuantitativos de biopsias y los cultivos semicuantitativos obtenidos con hisopos.



Materiales

- Dos escobillones (hisopo) de algodón o alginato.
- Solución salina al 0,9%.
- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%.

- Solución con base yodada.
- Alcohol isopropílico al 70%.
- Tubos con medio de transporte (aerobio y anaerobio) o tubos estériles.
- Una lámina de vidrio.
- Guantes no estériles.
- Guantes estériles.
- Bata desechable, tapabocas, mascarilla facial o gafas de protección.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizarse higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de muestra de heridas abiertas. Se debe tener en cuenta que la información que se encuentra en la orden debe incluir:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra y la localización anatómica de la lesión.
 - Estudios microbiológicos solicitados (coloración de gram, cultivos de gérmenes comunes, anaerobios, micobacterias, hongos, etc.).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otro tipo de información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acompañante el procedimiento que se va a realizar.
- Realizar higiene de manos y vestir con elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Se recomienda realizar asepsia y antisepsia en áreas circundantes de la herida con Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con base yodada.
- Con solución salina, realizar desbridamiento de la superficie de la herida, buscando eliminar el tejido necrótico y detritus tisulares. Después del desbridamiento, lavar con solución salina estéril. (Church D, 2006) higiene de manos y utilizar guantes estériles.

- Con un hisopo, muestrear un área de 1 cm² del tejido celular subcutáneo, los bordes de la herida o la base de la lesión. Evitar frotar con fuerza excesiva para disminuir el riesgo de sangrado.
- En heridas muy secas, impregnar el hisopo con solución salina estéril para realizar la toma de la muestra.
- Con el primer hisopo, inocular los medios de transporte si estos se encuentran disponibles. En caso contrario, colocar el hisopo en un tubo estéril para enviar al laboratorio de microbiología.
- Con el segundo hisopo, realizar un extendido en la lámina de vidrio para la coloración de Gram. Dejar secar la lámina y rotularla con los datos del paciente antes de enviarlo al laboratorio.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.5.5.3. Toma de la muestra obtenida a través de biopsias y curetajes

La adquisición de tejido viable a través de una biopsia durante el desbridamiento inicial, ha sido históricamente el método más utilizado para poder determinar la carga e invasividad de los microorganismos colonizadores en las infecciones de piel y tejidos blandos. El tejido obtenido asépticamente, es homogenizado, diluido y cultivado en medios selectivos y no selectivos para proveer información cualitativa y cuantitativa. En sospecha de infección de heridas por quemaduras, las muestras obtenidas por biopsia han sido las más utilizadas (Church D, 2006). En ocasiones, el tejido desvitalizado superficial de pacientes con pie diabético también puede aportar información significativa en el estudio microbiológico (P. G. Bowler, 2001). La realización de este procedimiento debe ser realizado exclusivamente por personal médico entrenado.



Materiales

- Guantes no estériles.
- Guantes estériles.

- Bata desechable, tapabocas, gafas y/o carilla.
- Frasco estéril de boca ancha y tapa rosca.
- Alcohol isopropílico al 70%.
- Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%.
- Solución con base yodada.
- Solución salina al 0,9%.
- Gasas estériles.
- Bisturí estéril.
- Pinzas con garra estéril.
- Campo quirúrgico estéril.
- Lidocaína.
- Jeringa de insulina.
- Prolene o Seda.
- Portaguñas estéril.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para esta toma de muestras. Se debe tener en cuenta que ésta debe contener la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra y la localización anatómica de la lesión.
 - Estudios microbiológicos solicitados (coloración de gram, cultivos de gérmenes comunes, anaerobios, micobacterias, hongos, etc.).
 - Nombre del médico que ordena/realiza el procedimiento.
 - Otro tipo de información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acompañante el procedimiento que se va a realizar.
- Con guantes no estériles, realizar asepsia y antisepsia de la herida con Gluconato de Clorhexidina al 2% en asociación con alcohol isopropílico al 70%. En situaciones de hipersensibilidad se recomienda el uso de soluciones con base yodada.
- Realizar higiene de manos y vestir con elementos de protección personal y guantes estériles.
- Colocar el campo quirúrgico estéril, seleccionando el mejor lugar para la toma de la muestra.

- Colocar 2 a 3 mL de lidocaína en el sitio elegido para la incisión, utilizando jeringa de insulina.
- Realizar dos incisiones perpendiculares a la lesión, de 1,5 a 2,0 cm longitud, que comprometa el tejido celular subcutáneo y que se encuentren separadas por 1,0 a 1,5 cm. La biopsia debe contener tejido de apariencia normal y tejido comprometido por la lesión. Con una pinza levantar tejido obtenido y con el bisturí, desprender la biopsia.
- Colocar la biopsia en una gasa estéril impregnada en solución salina y depositarlo en el frasco estéril de boca ancha.
- Aproximar los bordes del sitio quirúrgico, realizar uno o dos puntos de sutura.
- Si se requiere estudio histopatológico de la lesión, dividir en dos fragmentos similares el tejido y enviar una mitad al servicio de Anatomía patológica y la segunda mitad al laboratorio de microbiología.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.5.6 Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio

Las muestras obtenidas en jeringas o frascos estériles deben ser cerradas herméticamente o garantizando que no se presenten goteos o escapes que permitan la pérdida o contaminación de las muestras; de igual manera, los hisopos deben ser introducidos en tubos estériles. Ante sospecha de infección por anaerobios, solicitar antes de la toma de la muestra, medios de transporte adecuados para este tipo de cultivos. Finalmente, el rótulo de cada una de las muestras debe incluir el nombre del paciente, el número de identificación, el tipo de espécimen y la fecha de recolección. (Cercenado E, 2006)

El transporte de las muestras hasta el laboratorio de microbiología, debe realizarse lo más pronto posible a temperatura ambiente, máximo dos horas después de tomadas las muestras (L Raka, 2012) (P. G. Bowler, 2001).

Bibliografía

1. Cercenado E. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de piel y tejidos blandos. 2006.
2. Church D, et al. Burn wound infections. Clin Microbiol Rev 2006; 19(2): 403-34.
3. Raka L. Specimen collection and transport. In Kulich DTP. The Infection Preventionist's Guide to the Lab. Washington D.C.: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, APIC; 2012. p. 1-18.
4. Bowler PG, et al. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev 2001 Apr; 14(2): 244-69.

2.6 Procedimiento para la toma de muestras del tracto gastrointestinal

2.6.1 Objetivo y principios generales

Las infecciones del tracto gastrointestinal son el segundo tipo de enfermedades infecciosas más frecuentes, después de las enfermedades infecciosas del tracto respiratorio. Son múltiples las presentaciones que tienen las infecciones gastrointestinales al igual que los agentes etiológicos que los producen (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2008).

Para el diagnóstico de enfermedad diarreica del tracto gastrointestinal, incluyendo pruebas de biología molecular y estudios parasitológicos, el tipo de muestra de elección es la deposición con características diarreicas. Las deposiciones compactas o los hisopados no deben ser utilizadas para el diagnóstico microbiológico.

La severidad de la enfermedad diarreica está dada principalmente por la edad de los pacientes, severidad de la enfermedad, duración y tipo de la enfermedad, época del año y localización geográfica. El estudio microbiológico de la materia fecal está indicado en pacientes con enfermedad disentérica, fiebre, deposición con sangre, enfermedad nosocomial y enfermedad diarreica persistente (E Baron, 2013; 57).

En mujeres gestantes, el hisopado rectal se utiliza principalmente en la búsqueda de *S. agalactiae* con el objetivo de administrar antibiótico profiláctico durante el parto, para disminuir el riesgo de colonización del recién nacido por este microorganismo.

En pacientes pediátricos con sospecha de tuberculosis, se encuentra indicado tomar muestras de contenido gástrico con el objetivo de realizar cultivos para *Mycobacterium tuberculosis*.

También está indicado la utilización de muestras de materia fecal en pacientes con sospecha de infección por *Clostridium difficile*.

El propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la recuperación de microorganismos patógenos del tracto gastrointestinal.

2.6.2 Definiciones

- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.
- **Diarrea disenteriforme:** tipo de diarrea que se acompaña de dolor abdominal, calambres, tenesmo y deposiciones diarreicas con presencia de moco y sangre.
- **Diarrea coleriforme:** tipo de diarrea aguda que se manifiesta con deposiciones acuosas y que se presenta como más de 3 evacuaciones líquidas, amarillentas, sin evidencia de sangre, acompañadas de vómito, fiebre, disminución del apetito e irritabilidad.
- **Especificidad:** Probabilidad que el cultivo no muestre crecimiento si la infección es ausente.
- **Sensibilidad:** Probabilidad que el cultivo muestre crecimiento si la infección está presente.
- **Agente Contaminante:** Microorganismo aislado de un cultivo, el cual fue introducido dentro del cultivo durante la toma de la muestra o el procesamiento razón por la cual no se considera como agente etiológico.
- **Aislamiento Indeterminado:** Microorganismo clínico aislado cuya importancia clínica no se encuentra establecida.

2.6.3 Condiciones para la toma de la muestra

En pacientes con sospecha de infección por tuberculosis el paciente debe estar en ayunas y hospitalizado para poder realizar el procedimiento.

En pacientes con enfermedades diarreicas aguda, se recomienda tomar la muestra en los primeros días de la enfermedad. Ante sospecha de parásitos, tomar tres muestras en días diferentes. No se recomienda utilizar escobillones para la toma de la muestra.

2.6.4 Precauciones de bioseguridad

Seguir las condiciones de bioseguridad estándar para la toma de muestras biológicas. Garantizar la utilización de gafas de protección, tapa bocas y guantes para la manipulación de las muestras.

2.6.5 Instrucciones para la toma de muestras del tracto gastrointestinal

2.6.5.1 Toma de muestra de contenido gástrico para cultivo de Micobacterias

Este procedimiento se encuentra indicado en pacientes pediátricos que no tienen la capacidad de generar esputo. El contenido gástrico obtenido será utilizado para realizar la baciloscopia y para el cultivo de micobacterias.



Materiales

- Sonda nasogástrica pediátrica (seleccionar tamaño según edad del paciente).
- Recipiente estéril de boca ancha.
- Lubricante para la sonda (glicerina).
- Guantes no estériles.
- Jeringa estéril de 5 mL de 50 mL
- Agua estéril.
- Esparadrapo hipoalergénico (opcional).



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de este tipo de muestras. Se debe tener en cuenta que la información contenida en la orden debe incluir:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.

- Estudios microbiológicos solicitados.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otro tipo de información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acudiente el procedimiento a realizar y solicitar su colaboración.
 - Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
 - Ubicar al paciente en posición sentada o semisentada entre los 45 y los 90°, con el cuello ligeramente flexionado hacia adelante.
 - Realizar higiene de manos y colocar guantes no estériles.
 - Medir con la sonda la distancia entre la nariz y el ombligo, o la distancia entre la nariz y el lóbulo de la oreja, y desde el lóbulo de la oreja hasta los apéndices xifoides.
 - Lubricar la sonda nasogástrica con glicerina u otro lubricante.
 - Introducir la sonda por uno de los orificios nasales y dirigirla hacia abajo y la oreja del paciente. Si el paciente colabora, solicitar que trague saliva o tomar un poco de agua; en caso contrario, se debe estimular al paciente para que realice esta maniobra con un chupo.
 - Para verificar la localización de la sonda, aspirar una pequeña cantidad de jugo gástrico a través de la sonda con una jeringa de 5 mL. (Gomez L, 2008)
 - Una vez verificada la posición de la sonda nasogástrica, realizar lavado gástrico a través de la sonda utilizando 50 mL de agua estéril.
 - Recuperar el contenido gástrico en un recipiente estéril de boca ancha a través de la sonda nasogástrica.
 - Si se requiere más de una muestra, fijar la sonda con esparadrapo hipoalergénico a la cara del paciente.
 - Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
 - Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
 - Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.6.5.2. Toma de muestra de material fecal



Materiales

- Recipiente estéril de boca ancha
- Guantes no estériles



Procedimiento

- Explicar al paciente en qué consiste el procedimiento y la cantidad necesaria de materia fecal necesaria para el análisis.
- Realizar higiene de manos.
- Recoger en un recipiente estéril de boca ancha, 5 mL de materia fecal diarreica o 2 a 4 gramos de materia fecal compacta.
- En pacientes pediátricos que utilizan pañal, no colocar este por la posición absorbente para de esta manera poder obtener la muestra con mayor facilidad.

2.6.5.3. Toma de muestra de hisopado rectal



Materiales

- Escobillones de dacrón o rayón con mango plástico o sintético.
- Tubos con medio de transporte.
- Guantes no estériles.
- Elementos de protección personal.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la orden médica para la toma de muestra de hisopado rectal. Se debe tener en cuenta que la información contenida en la orden debe incluir:

- Nombre del paciente.
- Número de identificación.
- Estudios microbiológicos solicitados.
- Nombre del médico que ordena el procedimiento.
- Otro tipo de información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acompañante el procedimiento y solicitar su colaboración.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Ubicar a la paciente en posición ginecológica para la toma de la muestra.
- Realizar higiene de manos antes de iniciar el procedimiento.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Introducir cuidadosamente el hisopo de dacrón a través del esfínter anal cerca de 3 cm y realizar un movimiento de rotación de 360° contra las criptas rectales.
- Introducir los hisopos recogidos en un medio de transporte.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.6.6 Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio

Todas las muestras deben ser recogidas y rotuladas con el nombre del paciente, el número de identificación, el tipo de espécimen, la fecha de recolección y el tipo de estudio a realizar.

Las muestras de heces deben ser transportadas dentro de las dos primeras horas de ser tomadas a temperatura ambiente y pueden ser conservadas hasta por 24 horas en refrigeración entre 2°C y 8°C. En sospecha de infección por *C. difficile*, las muestras para cultivo deben ser transportadas dentro de la primera hora de ser tomada y puede ser conservada hasta por 48 horas entre 2 y 8°C; Para la búsqueda de la citotoxina, las muestras se pueden conservar hasta 72 horas congelada

a menos de 60°C. Para la búsqueda de parásitos, las muestras deben ser conservadas a temperatura ambiente. Ante la sospecha de Rotavirus, las muestras deben ser transportadas refrigeradas entre 2 y 8°C. (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2003)

En el caso de muestras de jugo gástrico para búsqueda de micobacterias, las muestras deben ser transportadas en menos de 15 minutos al laboratorio a temperatura ambiente.

Bibliografía

1. Baron EJ, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) (a). Clin Infect Dis. 2013; 57(4):22-121.
2. Gómez L. Guía pediátrica para la administración de Fármacos por sonda. 2008.
3. Raka L. Specimen collection and transport. In Kulich DTP. The Infection Preventionist's Guide to the Lab. Washington D.C.: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, APIC; 2012. p. 1-18.
4. Cercenado E, et al. Diagnóstico Microbiológico de las enfermedades gastrointestinales. 2008.



2.7 Procedimiento para la toma de muestras del tracto genital

2.7.1 Objetivo y principios generales

Las lesiones del tracto genital, pueden tener múltiples etiologías que hacen del diagnóstico microbiológico un desafío en la práctica clínica (E Baron, 2013; 57). A nivel mundial, más de 300 millones de infecciones de transmisión sexual son diagnosticadas en pacientes entre los 15 y los 49 años principalmente. Los agentes que con mayor frecuencia se observan son *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, virus del papiloma humano (VPH) y virus del Herpes Genital (VHS) entre otros. (J Aznar, 2007)

Existen otras infecciones del tracto genitourinario que no se originan a partir de agentes transmitidos sexualmente; sin embargo, por sus características la toma de muestras microbiológicas de estas lesiones debe ser igual a la que se realiza para infecciones de transmisión sexual. En este sentido, en el siguiente procedimiento no se realizará diferenciación entre este tipo de entidades.

Para facilitar el estudio microbiológico de las infecciones del tracto genital, estas se pueden dividir topográfica o sindromáticamente como (J Aznar, 2007):

- Ulceras Genitales: pueden ser dolorosas o no dolorosas. Los agentes más frecuentes son el VHS, *Treponema pallidum* y *Haemophilus ducreyi*.
- Uretritis y cervicitis: La más reconocida corresponde a la uretritis gonocócica originada por la *Neisseria gonorrhoeae*. Los agentes no gonocócicos corresponden a la *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium* y *Candida sp.* entre otros.
- Vulvovaginitis: En este caso, los agentes más frecuentes son la *Candida sp.*, *Trichomona vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*,

Mycoplasma hominis, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*.

La flora bacteriana mixta que se encuentra en el tracto genital, exige que la toma de muestras, el procesamiento y la interpretación de la prueba sean cuidadosos con el único objetivo de ayudar al diagnóstico definitivo. Un inadecuado procedimiento o identificación errónea del microorganismo causal de la enfermedad puede tener consecuencias de tipo físico, moral y social. Siempre se debe recordar que la correlación clínica es fundamental antes de validar un resultado definitivo.

Teniendo en cuenta lo anterior, el propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la recuperación de microorganismos patógenos de especímenes del tracto genital masculino y femenino.

2.7.2 Definiciones

- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.
- **Desinfectante:** Sustancia que reduce la concentración de bacterias, hongos o virus en una superficie.
- **Especificidad:** Probabilidad que el cultivo no muestre crecimiento si la infección está ausente.
- **Sensibilidad:** Probabilidad que el cultivo muestre crecimiento si la infección está presente.
- **Hisopo:** Instrumento utilizado para la recolección de muestras el cual tiene forma de bastoncillo acabado en uno de sus extremos en una punta de algodón, rayón o dacrón. Para la toma de muestras microbiológicas no se recomienda utilizar hisopos de algodón o que contengan alginato de calcio, los cuales pueden contener inhibidores de los ensayos moleculares o inactivar los virus antes de su detección en el Laboratorio.
- **Agente Contaminante:** Microorganismo aislado de un cultivo, el cual fue introducido durante la toma de la muestra o el procesamiento razón por la cual no se considera como agente etiológico.
- **Aislamiento Indeterminado:** Microorganismo clínico aislado cuya importancia clínica no se encuentra establecida.

2.7.3 Condiciones para la toma de la muestra

Las muestras del tracto genital deben ser cultivadas tan pronto sea posible para garantizar la viabilidad de microorganismos de crecimiento difícil y evitar el sobrecrecimiento de bacterias contaminantes. La muestra debe ser tomada utilizando los materiales adecuados y tener los medios de transporte correctos para garantizar la supervivencia de los microorganismos, para así aumentar la sensibilidad de las pruebas microbiológicas (p.ej. hisopos de dacrón o alginato cálcico para clamidias, tubos de transporte con urearginina para mycoplasma) (J Aznar, 2007).

2.7.4 Precauciones de bioseguridad

Seguir las condiciones de bioseguridad estándar para la toma de muestras biológicas. Garantizar la utilización de careta facial o gafas de protección, tapabocas y bata anti fluidos desechables.

2.7.5 Instrucciones para la toma de muestras del tracto genital

2.7.5.1 Toma de muestra de lesiones o úlceras

Para la adecuada toma de muestras de este tipo de lesiones se deben tener en cuenta los posibles agentes etiológicos responsables de la infección; dependiendo del tipo de agente etiológico que se sospeche y del tipo de examen solicitado, antes de la toma de la muestra se deben tener los materiales adecuados y el medio de transporte correcto para garantizar la viabilidad de la muestra.



Materiales

- Dos escobillones de dacrón o rayón con mango plástico o sintético.
- Solución salina al 0,9%.
- Gasas estériles.
- Dos tubos secos.
- Dos tubos con medio de transporte específico.
- Jeringa.

- Láminas portaobjetos.
- Laminillas cubreobjetos.
- Guantes no estériles.
- Elementos de protección personal.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Verificar que en la orden médica para la toma de muestra de lesiones o úlceras del tracto genital sea incluida la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra que el médico solicita (p.ej. Exudado anal, exudado uretral, Exudado de úlceras, Exudado Uretral, Exudado vaginales).
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente el procedimiento y solicitar su colaboración para el procedimiento.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Revisar el área de la toma de la muestra y seleccionar las lesiones más representativas de las cuales se tomará la muestra.
- Limpiar con una gasa humedecida con solución salina al 0,9% la superficie de la lesión.

Sospecha de Infección por Herpes Virus

- Romper la vesícula y con escobillón estéril recoger el líquido saliente.
- Colocar el escobillón en un tubo con medio de transporte tamponado a base de rojo fenol, antibióticos y una fuente proteica.

- Con hoja de bisturí raspar la base de la vesícula y con otro escobillón frotar la base de la vesícula para recoger el material desprendido.
- Si lesión es costrosa, retirar la costra con hoja de bisturí o aguja estéril. Posteriormente, con escobillón humedecido con solución salina 0,9% frotar la base de la vesícula para recoger el material desprendido. Evitar generar sangrado.
- Realizar extendido con el escobillón en una lámina portaobjetos para realizar estudio de Tzank, papanicolau o Inmunofluorescencia directa (Warren T, 2005).

Sospecha de infección por *Haemophilus ducreyi*

- Con hoja de bisturí o aguja estéril, retirar la costra o romper la vesícula y con hisopo de dacrón recoger el líquido saliente.
- Colocar el hisopo en tubo estéril con medio de transporte el cual le dará viabilidad al microorganismo de 24 horas.

Sospecha de infección con Sífilis

- Limpiar la úlcera con gasa estéril humedecida con solución salina.
- Apretar suavemente la base de la lesión hasta que se obtenga un líquido claro.
- Tocar la úlcera con una lámina portaobjetos y colocar inmediatamente una lámina cubreobjetos y observar inmediatamente al microscopio en campo oscuro.
- Si no se obtiene líquido, añadir una gota de solución salina al 0,9% en la lesión y con jeringa aspirar nuevamente el líquido sobre la lesión y extender el material sobre una lámina portaobjetos.
- Para realizar Inmunofluorescencia directa, con una lámina portaobjetos realizar presión directa sobre la base de la úlcera. Posteriormente dejar secar a temperatura ambiente.

Sospecha de Donovanosis

- Limpiar apropiadamente la úlcera con suficiente solución salina estéril.
- Con hoja de bisturí, realizar raspado activo del borde de la lesión y/o del tejido de granulación de la úlcera. Evitar el sangrado durante el procedimiento.
- Colocar el material producto del raspado sobre una lámina portaobjeto y dejar secar al aire libre.

- Al finalizar el procedimiento retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.7.5.2. Toma de muestra de exudado uretral

Las uretritis tienen signos y síntomas similares en los hombres y las mujeres debido a que los agentes etiológicos son comunes en los dos. Las uretritis son factores de riesgo para desarrollar infecciones del tracto genital superior como son la Enfermedad Pélvica Inflamatoria, o en los hombres orquidoepididimitis y prostatitis. El diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno y completo de las uretritis son herramientas fundamentales para disminuir las complicaciones. Los estudios moleculares recientemente han mostrado una mejor sensibilidad y especificidad comparadas con los estudios convencionales (cultivos e Inmunofluorescencia directa) (J Aznar, 2007).



Materiales

- Escobillones de dacrón o rayón con mango plástico o sintético.
- Uno o dos tubos con medio de transporte específico.
- Láminas portaobjetos.
- Laminillas cubreobjetos.
- Guantes no estériles.
- Elementos de protección personal.



Procedimiento en hombres

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestras debe realizar higiene de manos.
- Verificar que la orden médica contenga la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra que el médico solicita

- Tipo de cultivo que el médico requiere.
- Nombre del médico que ordena el procedimiento.
- Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente el procedimiento y solicitar su colaboración. Para obtener el mejor rendimiento de la prueba, indicar al paciente que no debe orinar en las dos (2) horas previas al procedimiento.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Si existe secreción abundante, con la mano libre tomar el pene y con la otra mano, recoger la secreción utilizando un hisopo de dacrón. Si es necesario, “exprimir la uretra” para obtener mayor cantidad de secreción. Tomar dos o más hisopos.
- Si no se observa secreción, con la mano libre tomar el pene y con la otra mano, introducir cuidadosamente el hisopo de dacrón en la uretra cerca de 2 cm y realizar un movimiento de rotación. Tomar dos o más hisopos.
- Con una lámina portaobjetos, realizar un extendido con uno de los hisopos para realizar coloración de Gram.
- Introducir los hisopos recogidos en un medio de transporte que cumpla con condiciones de crecimiento de las posibles bacterias que se puedan encontrar en la muestra.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.



Procedimiento en mujeres

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Verificar que la orden médica contenga la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra que el médico solicita
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.

- Nombre del médico que ordena el procedimiento.
- Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar a la paciente el procedimiento y solicitar su colaboración
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Ubicar a la paciente en posición ginecológica para la toma de la muestra.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Si existe secreción abundante, con la mano libre separar los labios mayores y con la otra mano, recoger la secreción utilizando un hisopo de dacrón. Tomar dos o más hisopos.
- Si no se observa secreción, con la mano libre separar los labios mayores y con la otra mano, introducir cuidadosamente el hisopo cerca de 2 cm y realizar un movimiento de rotación. Tomar dos o más hisopos.
- En una lámina portaobjetos, realizar un extendido con uno de los hisopos para realizar coloración de Gram.
- Introducir los hisopos recogidos en un medio de transporte que cumpla con condiciones de crecimiento de las posibles bacterias que se puedan encontrar en la muestra.
- Al finalizar el procedimiento, retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.7.5.3. Toma de muestra de exudado vaginal

Exudado vaginal se puede encontrar en presencia de *vaginitis*, ocasionada por *Candida sp* y *Trichomona vaginalis*. De igual manera, la toma de muestra de exudado vaginal es fundamental para el diagnóstico microbiológico de la *vaginosis* bacteriana ocasionada por *Gardnerella vaginalis*. Ante sospecha de infecciones por *N. gonorrhoeae*, se debe realizar en conjunto con el frotis vaginal, la toma de muestra del exudado cervical. En el caso de mujeres gestantes, se debe realizar búsqueda

activa de colonización por *Streptococcus agalactiae* con el objetivo de dar tratamiento profiláctico durante el parto para evitar la contaminación del neonato. No se deben realizar cultivos para microorganismos anaerobios por el alto riesgo de contaminación. (J Aznar, 2007)(P Murray, 2010)



Materiales

- Escobillones de dacrón o rayón con mango plástico o sintético.
- Uno o dos tubos con medio de transporte específico.
- Espéculo Vaginal.
- Guantes no estériles.
- Elementos de protección personal.



Procedimiento para la toma de la muestra

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Verificar que la orden médica contenga la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra que el médico solicita
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar a la paciente el procedimiento, solicitar su colaboración y autorización para poder avanzar en la toma de la muestra.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Ubicar a la paciente en posición ginecológica para la toma de la muestra.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Con extremo cuidado, introducir espéculo a través del introito vaginal sin utilizar gel lubricante. Abrir el espéculo para poder visualizar la cavidad vaginal y el cérvix uterino.
- Recoger con hisopos de dacrón el exudado vaginal depositado en el fondo de saco vaginal posterior. Tomar dos o más hisopos. Si la

paciente se encuentra histerectomizada, tomar las muestras del fornix posterior.

- En sospecha de infecciones por *N. gonorrhoeae*, tomar inmediatamente muestra de exudado endocervical.
- Introducir los hisopos inmediatamente en los tubos con medio de transporte específico. (E Baron, 2013; 57)
- Al finalizar el procedimiento retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.7.5.4. Toma de muestra de exudado cervical

La presencia de exudado cervical se puede encontrar en presencia de cervicitis, endometritis, y enfermedad pélvica Inflamatoria crónica. Ante sospecha de infección gonocócica, se debe tomar siempre muestra del exudado cervical en compañía de la muestra del exudado vaginal. En pacientes gestantes, este tipo de muestra debe ser realizado por personal médico experimentado. (Warren T, 2005) (J Aznar, 2007)



Materiales

- Escobillones de dacrón o rayón con mango plástico o sintético.
- Uno o dos tubos con medio de transporte específico.
- Espéculo vaginal.
- Guantes no estériles.
- Elementos de protección personal.



Procedimiento para la toma de la muestra

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestras debe realizar higiene de manos.
- Verificar que la orden médica contenga la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.

- Tipo de muestra que el médico solicita
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar a la paciente el procedimiento, solicitar su colaboración y autorización para poder avanzar en la toma de la muestra.
 - Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
 - Ubicar a la paciente en posición ginecológica para la toma de la muestra.
 - Realizar higiene de manos.
 - Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
 - Con extremo cuidado, introducir espéculo a través del introito vaginal sin utilizar gel lubricante. Abrir el espéculo para poder visualizar la cavidad vaginal y el cérvix uterino.
 - Con un hisopo de dacrón estéril, retirar el exceso de moco de la superficie del cérvix. Posteriormente descartar el hisopo.
 - Introducir un nuevo hisopo de dacrón en el canal endocervical y rotarlo 360° cuidadosamente. Repetir este procedimiento con un tercer hisopo de dacrón.
 - Introducir los hisopos inmediatamente en los tubos con medio de transporte específico.
 - Al finalizar el procedimiento retirar los guantes y realizar higiene de manos.
 - Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
 - Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.7.5.5. Toma de muestra de exudado de la glándula de Bartolin

El siguiente procedimiento se encuentra indicado en estadios tempranos de la enfermedad. En presencia de absceso, se debe seguir el procedimiento descrito para lesiones de piel y tejidos blandos. (J Aznar, 2007)



Materiales

- Escobillones de dacrón o rayón con mango plástico o sintético.
- Uno o dos tubos con medio de transporte específico.
- Espéculo vaginal.
- Guantes no estériles.
- Elementos de protección personal.



Procedimiento para la toma de la muestra

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Verificar que la orden médica contenga la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra que el médico solicita
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar a la paciente el procedimiento, solicitar su colaboración y autorización para poder avanzar en la toma de la muestra.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Ubicar a la paciente en posición ginecológica para la toma de la muestra.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Con extremo cuidado, introducir espéculo a través del introito vaginal sin utilizar gel lubricante. Abrir el espéculo para poder visualizar la cavidad vaginal y el cérvix uterino.
- Tomar un hisopo de dacrón estéril e introducirlo en la glándula de Bartolin, rotándolo contra las paredes. Repetir este procedimiento en tres ocasiones para obtener muestras para detección de *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* y gérmenes comunes, según orden médica.
- Introducir los hisopos inmediatamente en los tubos con medio de transporte específico. (E Baron, 2013; 57)

- Al finalizar el procedimiento, retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.7.5.6. Toma de muestra de secreción prostática

La toma de muestras de secreción prostática se debe realizar posteriormente a realizar masaje prostático intrarrectal. Se encuentra indicada en pacientes con sospecha clínica de prostatitis infecciosa, epididimitis y/o orquitis. (L Raka, 2012) (E Baron, 2013; 57)



Materiales

- Escobillones de dacrón o rayón con mango plástico o sintético.
- Tubo estéril con medio de transporte seleccionado.
- Frasco estéril de boca ancha y tapa rosca.
- Agua y Jabón.
- Guantes no estériles.
- Elementos de protección personal.



Procedimiento para la toma de la muestra

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Verificar que la orden médica contenga la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra que el médico solicita
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente el procedimiento, solicitar su colaboración y autorización para poder avanzar en la toma de la muestra.

- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Ubicar al paciente en decúbito lateral con las piernas flexionadas para la toma de la muestra.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Realizar lavado del meato urinario y el glande con agua y jabón.
- Recubrir el dedo índice de la mano con la cual se va a realizar el masaje prostático y con la mano libre, separar el pliegue glúteo dejando expuesto la región anal.
- Cuidadosamente, introducir el dedo índice en el recto y avanzar hasta identificar en la región anterior la próstata. Realizar masaje prostático por algunos segundos.
- Terminado el masaje, recoger en un recipiente de boca ancha la secreción generada por el masaje. En caso de ser escaso, recogerlo cuidadosamente con uno o dos hisopos de dacrón cuidadosamente.
- Cerrar completamente el frasco contenedor o introducir los hisopos en los tubos estériles.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.7.5.7. Toma de muestra de semen

La toma de muestras de semen debe ser recogida en un frasco estéril de boca ancha después de estimulación local por parte del paciente por medio de la masturbación. La utilidad diagnóstica de la prueba para el diagnóstico de orquitis es limitada y se recomienda principalmente la recolección de la secreción prostática posterior a masaje prostático (E Baron, 2013; 57) (J Aznar, 2007)



Materiales

- Frasco estéril de boca ancha y tapa rosca.
- Agua y Jabón.



Procedimiento

- Verificar que la orden médica contenga la siguiente información:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de muestra que el médico solicita
 - Tipo de cultivo que el médico requiere.
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Información adicional que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente el procedimiento, solicitar su colaboración y autorización para poder avanzar en la toma de la muestra.
- Facilitar al paciente un espacio íntimo para la toma de la muestra.
- Indicar al paciente que se debe realizar higiene de manos, lavar el pene y el meato urinario antes de proceder a tomar la muestra.
- Indicar al paciente que debe tomar la muestra por medio de estimulación personal a través de la masturbación. La muestra se debe recoger en un frasco de boca amplia estéril.
- Cerrar completamente el frasco contenedor de la muestra.
- Realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.


2.7.6 Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio

Recordar que siempre las muestras deben ser recolectadas en tubos estériles con medios de transporte específicos para el tipo de muestra y/o el microorganismo sospechado por parte del médico. Las muestras de secreciones prostáticas y semen deben ser recogidas en frascos estériles de boca ancha. El rótulo de cada espécimen debe incluir el nombre del paciente, el número de identificación, el tipo de espécimen y la fecha de recolección.

El transporte de las muestras hasta el laboratorio debe realizarse lo más pronto posible, máximo hasta dos horas después de tomadas las muestras manteniéndolas a temperatura ambiente (L Raka, 2012). Si se han solicitado cultivos para *Chlamidia trachomatis* las muestras deben ser transportadas en el menor tiempo posible al laboratorio bajo refrigeración a 4°C (E Baron, 2013; 57).

Bibliografía

1. Baron EJ, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) (a). Clin Infect Dis. 2013; 57(4):22-121.
2. Raka L. Specimen collection and transport. In Kulich DTP. The Infection Preventionist's Guide to the Lab. Washington D.C.: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, APIC; 2012. p. 1-18.
3. Aznar J, et al. Diagnóstico microbiológico de infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales. Procedimientos en microbiología clínica 2007; 2-60.
4. Murray P. The Clinician and the Microbiology Laboratory. In Mandell JBG. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases: Churchill Livingstone; 2010. p. 233-62.
5. Warren T. Diagnóstico: Toma de muestras con Hisopo. In Warren T. La guía actualizada del herpes. Portland: The Portland Press.; 2005. p. 8.



2.8 Procedimiento para la toma de muestras de secreciones del oído medio y secreciones oculares

2.8.1 Objetivo y principios generales

La otitis media aguda es una de las infecciones más frecuentes en pediatría, razón por la cual el tratamiento es esencialmente empírico, práctica clínica que puede ser responsable de la elevada tasa de resistencia a β -lactámicos y macrólidos de los agentes etiológicos de la otitis, principalmente el *Streptococcus pneumoniae* (Gené, 2004).

El diagnóstico es esencialmente clínico teniendo en cuenta los cambios eritematosos y la presencia de efusión en el oído medio evidente en la otoscopia. Los cultivos microbiológicos de secreciones del oído no son utilizados de rutina; estos se encuentran indicados en pacientes con resistencia a la terapia empírica y quienes requieren timpanocentesis para identificar y evaluar la sensibilidad de los microorganismos y aliviar la tensión generada por la acumulación de líquido en la cavidad.

Por otra parte, las infecciones conjuntivales, aunque generalmente no producen un riesgo a largo plazo, son responsables del 1% de las consultas; ocho de cada diez niños tienen un episodio conjuntival una vez al año y habitualmente los médicos ordenan antibióticos para tratar a los pacientes. Algunos estudios han encontrado una fuerte asociación entre las descargas purulentas con el ojo rojo y la positividad con agentes bacterianos etiológicos. (Rose, 2007)

El propósito del presente procedimiento es proveer una guía para la recuperación de microorganismos patógenos de secreciones del oído medio y secreciones oculares.

2.8.2 Definiciones

- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.
- **Desinfectante:** Sustancia que reduce la concentración de bacterias, hongos o virus en una superficie.
- **Falso Positivo:** Resultado positivo de una prueba diagnóstica cuando la enfermedad o la condición no se encuentra presente
- **Verdadero Positivo:** Resultado positivo de una prueba diagnóstica para una enfermedad cuando la enfermedad o la condición se encuentra presente.
- **Especificidad:** Probabilidad que el cultivo no muestre crecimiento si la Infección está ausente.
- **Sensibilidad:** Probabilidad que el cultivo muestre crecimiento si la infección está presente.

2.8.3 Condiciones para la toma de la muestra

La toma de muestras de secreción del oído medio y de secreciones oculares debe ser tomada antes de iniciar tratamientos antibióticos locales o sistémicos.

2.8.4 Precauciones de bioseguridad

Seguir las condiciones de bioseguridad estándar para la toma de muestras biológicas. Garantizar la utilización de tapabocas, careta facial o gafas protectoras, guantes no estériles y bata limpia.

2.8.5 Instrucciones para la toma de muestras de líquidos de las cavidades corporales

2.8.5.1 Toma de muestra de secreciones óticas

La toma de muestras de secreciones óticas puede ser realizada a partir de la timpanocentésis o de la recolección de la efusión espontánea del oído medio tras una otitis media supurativa. La primera se considera el método de elección por tener un menor riesgo de contaminación y dar una solución terapéutica inmediata para el paciente (Pichichero, 2013). Por su complejidad, la técnica de la timpanocentésis se encuentra más allá del alcance del presente manual; sin embargo, la recolección con hisopo de la efusión del oído medio es una opción cuando ésta se ha presentado espontáneamente (AS Adoga, 2010) por lo cual a continuación se presenta la técnica para su recolección.



Materiales

- Hisopo de algodón estéril.
- Tubo estéril con medio de transporte seleccionado.
- Guantes no estériles.
- Careta facial o gafas protectoras.
- Tapabocas.
- Solución Salina.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la información de la orden médica la cual debe incluir:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere (gérmenes comunes, hongos, etc.).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente y/o acompañantes el procedimiento y solicitar su colaboración.

- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Ubicar al paciente en posición sentada; si es un niño sentarlo en las piernas de los familiares y/o acudiente y solicitar su colaboración.
- Preparar los elementos que se utilizarán durante el procedimiento.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Realizar otoscopia para confirmar la presencia de perforación timpánica y de efusión espontánea a través del tímpano.
- No realizar limpieza de la cavidad.
- Introducir el hisopo estéril humedecido con solución salina y suavemente realizar un movimiento circular buscando recoger la secreción purulenta proveniente del oído medio.
- Retirar el hisopo e introducirlo en el tubo estéril con medio de transporte.
- Tapar el tubo con tapa de caucho o de rosca, verificando que no existan fugas para el transporte.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.8.5.2 Toma de muestra de secreciones conjuntivales

Las muestras de secreciones conjuntivales son habitualmente tomadas en servicios médicos básicos debido a que son sencillos de tomar y no requieren mayor instrumental o experticia para poder desarrollarlo. En el caso de otro tipo de muestras oculares, como raspados córneos o aspirados intraoculares, éstos deben ser realizados por profesionales especializados en el área.



Materiales

- Dos Hisopos de alginato de calcio estéril.
- Solución salina al 0,9%.
- Tubo estéril con medio de transporte adecuado.
- Lamina portaobjeto.
- Guantes no estériles.
- Careta facial o gafas protectoras.
- Tapabocas.



Procedimiento

- Antes de acercarse al entorno del paciente para tomar este tipo de muestra debe realizar higiene de manos.
- Revisar la información de la orden médica la cual debe incluir:
 - Nombre del paciente.
 - Número de identificación.
 - Tipo de cultivo que el médico requiere (gérmenes comunes, hongos, etc.).
 - Nombre del médico que ordena el procedimiento.
 - Otra información que el médico y el laboratorio acuerden previamente como parte del protocolo de toma de muestras de la institución.
- Explicar al paciente o a los acompañantes el procedimiento y solicitar su colaboración.
- Seleccionar una fuente de luz adecuada que permita realizar fácilmente el procedimiento.
- Ubicar al paciente en posición sentada; sí es un niño sentarlo en las piernas de los padres y solicitar su colaboración.
- Preparar los elementos que se utilizaran durante el procedimiento.
- Realizar higiene de manos.
- Colocar los elementos de protección personal y guantes no estériles.
- Con solución salina al 0,9%, limpiar la superficie externa del ojo comprometido.
- Con los dedos separar el párpado inferior y rotar el hisopo humedecido con solución salina frotando el borde interno de la conjuntiva desde el fórnix conjuntival en el borde nasal hasta el borde temporal.
- Colocar el hisopo en un tubo estéril con medio de transporte para el laboratorio.
- Repetir con el segundo hisopo el procedimiento y realizar un extendido sobre la lámina portaobjeto
- Nuevamente repetir el procedimiento para el ojo contralateral.
- Tapar los tubos con el medio de transporte, verificando que no existan fugas para el transporte.
- Retirar los guantes y realizar higiene de manos.
- Rotular la muestra con el nombre y número de identificación del paciente y la hora de recolección.
- Enviar al laboratorio de microbiología siguiendo las recomendaciones de transporte.

2.8.6 Recomendaciones para el embalaje y el transporte de las muestras al laboratorio

Todas las muestras en tubos recogidas deben ser rotuladas con el nombre del paciente, el número de identificación, el tipo de espécimen, la fecha de recolección y el tipo de estudio a realizar.

El transporte de las muestras hasta el laboratorio debe realizarse lo más pronto posible, máximo dentro de las dos primeras horas, después de tomadas las muestras manteniéndose a temperatura ambiente (B Orden, 2005). Se debe evitar refrigerar las muestras hasta su procesamiento.

Bibliografía

1. Adoga AS, et al. Swab and aspiration specimen collection methods and antibiogram in chronic suppurative otitis media at Jos University Teaching Hospital: Which is superior? *Ann Afr Med.* 2010 ; 9(4): 2304.
2. Gené A, et al. Etiology of acute otitis media in a children's hospital and antibiotic sensitivity of the bacteria involved. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004 ; 22(7): 377-80.
3. Orden B, et al. Apropos of spontaneous otic secretion to establish the etiology of acute otitis media. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005; 23(1): 45-6.
4. Hospital del Salvador, Chile. Norma Toma de muestras microbiológicas. Santiago de Chile: 2009.
5. Pichichero ME. Otitis Media. *Pediatric Clinics of North America.* 2013; p. 391 -407.
6. Rose P. Management strategies for acute infective conjunctivitis in primary care: a systematic review. *Expert Opin. Pharmacother.* 2007 p. 1903 -21.



3.

Muestras ambientales

3.1 Procedimiento para la toma de muestras ambientales en instituciones prestadoras de servicios de salud

3.1.1. Objetivo y principios generales

Durante los últimos años, la relación entre el ambiente hospitalario y las infecciones asociadas con la atención en salud ha ganado fuerza. La adecuada identificación de éstos, es fundamental para disminuir el riesgo de desarrollar infecciones asociadas a la atención en salud. Los patógenos que tienen demostrada una mayor capacidad para sobrevivir en reservorios intrahospitalarios son *Clostridium difficile*, *Enterococcus spp* incluyendo cepas resistentes a vancomicina, *A.baumannii*, y *S. aureus* incluyendo cepas resistentes a la meticilina. y *Aspergillus* (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica SEIMC,). Si bien el control microbiológico ambiental sistemático y rutinario no se encuentra recomendado (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica SEIMC, 2012), se han descrito una serie de criterios encaminados a definir situaciones precisas para realizar investigaciones que pueden tener una relación cercana con el medio ambiente hospitalario (Cuadro 2). La aplicación de estos criterios le permitirá a los investigadores determinar la contribución del ambiente intrahospitalario en las infecciones asociadas a la atención en salud. Adicionalmente, permitirá tomar decisiones que tendrán gran relevancia en el control de infecciones. (Sehulster LM, 2004).

Cuadro 2. Criterios para la evaluación de la asociación de fuentes ambientales con Infecciones asociadas a la atención en salud

1. Los microorganismos pueden sobrevivir después de la inoculación en el fómite.
2. El microorganismo puede ser cultivado desde el fómite estando este en uso.
3. El microorganismo puede sobrevivir dentro o sobre el fómite.
4. La forma de adquisición no puede ser explicada por otros medios de transmisión.
5. Estudios retrospectivos de casos y controles muestran una fuerte asociación entre la infección y la exposición al fómite.
6. Estudios prospectivos de casos y controles pueden ser posibles cuando uno o más fómites se encuentran en uso.
7. Estudios prospectivos pueden mostrar como la exposición de un grupo de pacientes a un fómite se asocia con el desarrollo de infecciones.
8. La descontaminación del fómite resulta en la eliminación de las infecciones asociadas a la atención en salud.

Tomado de: (Schulster LM, 2004).

La comprensión de cómo la infección ocurre después de la exposición, se fundamenta en los principios de lo que se denomina la “cadena de la infección”. Los componentes de ésta última son el número suficiente de microorganismos patógenos, la virulencia de los organismos patogénicos, la presencia de un huésped susceptible, la transferencia o transmisión de los microorganismos a la superficie del huésped y el contacto de los patógenos con una adecuada puerta de entrada al huésped. De estos componentes, la presencia de un huésped susceptible, será de gran importancia para la trascendencia de microorganismos oportunistas en las superficies, el aire y el agua.

Los cultivos ambientales se deben enfocar al control de las infecciones asociadas a la atención en salud especialmente en casos de brotes. La institución definirá la pertinencia como medida de prevención y control en caso de no tratarse de brotes.

3.1.2 Definiciones

- **Medio de Cultivo:** Sustancia enriquecida con factores necesarios para el crecimiento de los microorganismos.
- **Desinfectante:** Sustancia que reduce la concentración de bacterias, hongos o virus en una superficie.
- **Aislamiento de infección transmitida por aire:** Las precauciones de tipo aéreo se refieren al aislamiento de pacientes infectados con microorganismos cuyo modo de transmisión es a través del aire por microgotas (diámetro <5 micrómetros) que poseen la particularidad de quedar suspendidas en el ambiente por largos periodos de tiempo y viajan grandes distancias. El área de aislamiento debe contar con presión negativa (la dirección del aire debe ser de afuera hacia adentro) y con cambios de aire continuos por hora (12). Las personas que ingresan a este espacio deben usar protección respiratoria adecuada (mascarilla de alta eficiencia referencia N95).
- **Ambiente protegido:** Áreas de atención a pacientes con flujos de aire positivos desde el cuarto o la habitación hacia el corredor. El alto recambio de aire acompañado de utilización de filtros HEPA crean un ambiente seguro para pacientes en condiciones de inmunosupresión.
- **Pacientes Inmunocomprometidos:** Pacientes cuyos mecanismos de defensa se encuentran deficientes debido a alteraciones inmunológicas (nutricionales, infecciosas, neoplásicas, terapéuticas, etc.) Estos pacientes se consideran de alto riesgo de infección causada por microorganismos oportunistas encontrados en el ambiente.
- **Brote:** Aumento excepcional o inesperado del número de casos de una infección asociada a la atención en salud conocida dentro de un periodo de tiempo definido o del surgimiento de casos de una nueva infección en un área determinada.

3.1.3 Precauciones de bioseguridad

El personal encargado de la toma de muestras ambientales deberá seguir las precauciones de bioseguridad establecidas para cada área especial de la institución hospitalaria (salas de cirugía, unidades de trasplante, unidades de cuidados intensivos, etc.).

Para el momento de la toma de la muestra, adicionalmente deberá llevar gorro, mascarilla facial, bata limpia (estéril si se encuentra en áreas controladas) y guantes no estériles (estériles si se encuentra en áreas controladas).

3.1.4 Control microbiológico del aire

Es fundamental en las unidades en las que se encuentran pacientes inmunosuprimidos o en las que se realizan procedimientos que requieren ambientes protegidos para disminuir el riesgo de infecciones. Dentro de los microorganismos que con mayor frecuencia se encuentran en este tipo de infecciones están los hongos filamentosos cuyas esporas pueden permanecer durante largo tiempo suspendidas en el aire. La realización de cultivos periódicos en los ambientes protegidos, permite garantizar el adecuado mantenimiento de los canales de ventilación evaluando indirectamente la limpieza de los canales.

No existe en la actualidad ningún consenso que defina el número de mediciones y la forma de hacer cultivos, así como la correlación entre los niveles detectados y la presencia de infecciones.

Los estudios microbiológicos se utilizan para determinar el número de microorganismos o partículas que se encuentran dentro de un espacio. La selección del tipo de instrumento o método para tomar las muestras del aire requiere un conocimiento claro de la información que se quiere para cada caso particular, por ejemplo, conocimiento de un microorganismo particular o todos, los cambios de las concentraciones de ciertos microorganismos en el tiempo, el tamaño de las partículas que se van a colectar, etc.

Antes de tomar la muestra es importante que los responsables del comité de infecciones en conjunto con el epidemiólogo y el personal profesional del laboratorio determinen las áreas de evaluación y la capacidad y experiencia que se requiere para tomar este tipo de muestras.

En áreas controladas en las que se requiere condiciones restringidas de presencia de microorganismos, se recomienda realizar el método volumétrico por impacto y aspiración ya que pueden analizar grandes volúmenes de aire en periodos relativamente cortos. El volumen del aire a tomar depende de la probabilidad de contaminación presente (flujo de personas, ventanas abiertas, etc.). En áreas estériles, se recomienda un volumen de 1000 litros de aire en la toma debido a que volúmenes mayores podrían generar deshidratación del medio de cultivo.

Debido a que las esporas pueden permanecer indefinidamente en el aire, en caso de búsqueda de hongos, no se recomienda utilizar el método de sedimentación. Adicionalmente este método no puede cuantificar

el volumen de aire probado razón por la cual los resultados deben ser expresados en UFC por área y tiempo.



Materiales

- Muestrador de aire
- Placa de cultivos (para hongos utilizar agar Sabouraud con cloranfenicol y gentamicina, para bacterias se recomienda agar sangre y agar nutritivo)
- Incubadora
- Contador de colonias
- Solución desinfectante o esterilizador según disponibilidad.



Procedimiento de impactación

- Definir con el comité de infecciones las áreas y el punto de toma de muestra, en los cuales se va a realizar el muestreo (se recomienda que sean los puntos críticos).
- Antes de realizar la toma de la muestra, utilizar el cabezal estéril, si no cuenta con repuesto desinfectar el cabezal utilizando solución desinfectante según los protocolos institucionales; en caso de disponer de múltiples cabezales de repuesto, se recomienda esterilizarlos antes de ser utilizados.
- Una vez seleccionado el sitio de toma de la muestra, colocar la placa con el medio de cultivo en la parte superior del aparato, por debajo del cabezal de aspiración.
- Se recomienda no mover el equipo durante el muestreo, así como sacar la caja y tapanla inmediatamente después de concluido el tiempo del mismo.
- El muestrador tiene una capacidad de aspirar e impulsar 100 L/ min a través del cabezal perforado, cuyos orificios permiten que el aire impacte directamente sobre la placa de cultivo. Es importante verificar que no existan barreras para que el aire aspirado por el equipo fluya sin inconvenientes.
- Retirar la placa del dispositivo teniendo cuidado de no contaminarla, garantizando que la caja no se abra durante el transporte que deber ser de manera inmediata. Se recomienda que el transporte se realice a temperatura ambiente.

Consideraciones especiales

- Ante positividad de los cultivos iniciales, repetir el procedimiento en el mismo punto de la toma inicial, posterior a los procedimientos de mejora.
- La frecuencia del muestreo puede oscilar entre cada mes, 3 a 6 meses, o muestreo esporádico. Este dependerá del tipo de procedimientos que se realice y el área de muestreo.
- Siempre se deben tomar muestras ambientales en unidades quirúrgicas o de inmunosuprimidos cuando estas inicien su actividad, se realicen obras cercanas a las unidades, se confirme una infección con origen en microorganismos ambientales y en muestras espontáneas se confirme la positividad de uno de los casos.

Consideraciones para el transporte y conservación de la muestra

- Colocar la tapa y sellarla para evitar contaminaciones durante el traslado
- Rotular las muestras con el sitio de toma de la muestra, las condiciones y método de toma de la muestra.
- Mantener un histórico controlado y sistemático de los resultados previos de cada uno de los sitios muestreados.

3.1.4.2 Control microbiológico del agua

El muestreo de agua ha sido ampliamente estudiado para determinar la presencia de microorganismos patógenos de importancia y para verificar la calidad de agua de los sistemas de distribución en instituciones prestadoras de servicios de salud. Aunque no se utilizan de rutina, los resultados obtenidos de estas técnicas son fundamentales en estudios de brotes para poder implementar medidas correctivas encaminadas a ejercer el control de infecciones.

Teniendo en cuenta que las muestras de agua son recogidas en puntos terminales de los sistemas de distribución, se debe utilizar un agente reductor, como el tiosulfato de sodio, para neutralizar el cloro residual u otro halógeno en la muestra recogida.



Materiales

- Cuatro recipientes de 100 mL o un recipiente de 400 mL, con cierre hermético, de vidrio de borosilicato u otro vidrio neutro.
- Tiosulfato sódico al 10% P/V
- Nevera para transportar muestra refrigerada
- Solución de hipoclorito de sodio 500-600 ppm (1:100 v/v)
- Paño para la limpieza



Procedimiento

- Definir con el comité de infecciones los sitios en los cuales se va a realizar la toma de la muestra
- Para recolección de muestras de agua de puntos terminales, adicionar al frasco colector Tiosulfato sódico previo a la recolección de la muestra. Si es posible, flamear la boca del grifo para disminuir el riesgo de contaminación de las superficies o limpiar la superficie de la boca del grifo con solución de hipoclorito de sodio 500-600 ppm(1:100v/v)
- Dejar drenar por 3 minutos el chorro del agua. posteriormente tomar muestra de mínimo 100 mL de agua (idealmente 400 mL).
- Verificar que el frasco no se encuentra lleno hasta el tope, dejando un pequeño espacio de aire; posteriormente, cerrar inmediatamente el frasco estéril y comprobar que no se encuentran fugas del envase.

Consideraciones especiales

- Ante la sospecha de contaminación del agua por agentes coliformes, las muestras de agua pueden ser utilizadas dentro de protocolos de investigación microbiológica específicos. En este contexto, el protocolo de toma de muestras puede ser modificado por el comité de infecciones.
- El comité de infecciones debe documentar adecuadamente la implementación o modificación del protocolo para la toma de muestras ante la sospecha de contaminación por microorganismos (*Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp., y *Acinetobacter* sp.)

Consideraciones para el transporte y conservación de la muestra

- Después de la toma de la muestra, se recomienda que las muestras sean procesadas antes de las primeras 24 horas después de ser tomada la muestra. En caso de no cumplirse este requisito, deben tomarse nuevamente las muestras.
- Las muestras de agua a temperatura ambiente son altamente variables con respecto a la población microbiológica, por lo cual las muestras deben ser enviadas frías (0 - 8°C) al laboratorio y transportadas en la oscuridad. (Sehulster LM, 2004)
- Rotular las muestras con el sitio de toma de la muestra, las condiciones y método de toma de la muestra.
- Si es posible, mantener un histórico de los resultados previos de cada uno de los sitios muestreados.

3.1.5 Control microbiológico de superficies

Los microorganismos tienen una capacidad de supervivencia en el ambiente que les permiten sobrevivir por días, semanas o meses en superficies hospitalarias. Esta capacidad de los microorganismos los faculta para generar brotes de infecciones asociados a la atención en salud si no se elimina desde el origen. En otras ocasiones el origen se puede encontrar en soluciones, líquidos o medicamentos contaminados por microorganismos que se adaptan a estos medios.

La toma de muestras de superficies ambientales, no se utiliza de rutina, teniendo en cuenta que es un procedimiento no costo efectivo y difícil de interpretar. Las tomas de muestras ambientales son utilizadas con propósitos de investigación como parte de estudios epidemiológicos, garantía de la calidad, etc. En las investigaciones epidemiológicas, estas muestras se usan para evidenciar reservorios ambientales, microorganismos sobre superficies y fuente de contaminación ambiental. Este tipo de enfoque es utilizado durante investigaciones de brotes. Antes de realizar este tipo de toma es importante tener en cuenta los factores descritos a continuación (Cuadro 3.)

La utilidad de las muestras de superficie esta principalmente enfocada en investigación epidemiológica como parte de un esfuerzo por alcanzar el aseguramiento de la calidad. Los resultados dependerán de la selección de las muestras y la técnica seleccionada.

Cuadro 3. Recomendaciones a tener en cuenta antes de tomar muestras de superficies ambientales

1. Tener como información de base estudios de la literatura y/o resultados de investigaciones epidemiológicas previas
2. Localización de superficies que serán muestreadas
3. Selección del método y disponibilidad del equipo para tomar la muestra
4. Número de muestras que se tomarán y definir previamente cuál será la muestra de control contra la cual se realizará la comparación
5. Parámetros cuantitativos y cualitativos que serán evaluados en el procedimiento
6. Plan de acción correctivo

Tomado de: Sehulster LM, 2004

La toma de muestra microbiológica de superficies puede hacerse utilizando un escobillón estéril o esponja, que posteriormente se va a llevar a un caldo o por colocación directa del objeto en un líquido de enjuague (método de enjuague) o por presión directa sobre una placa de agar.

Para una adecuada toma de muestra de las superficies, se requiere de hisopos, esponjas o paños humedecidos en soluciones diluyentes (Tabla 1). Si persisten restos de desinfectantes, se deben utilizar neutralizantes en los diluyentes o los medios de cultivo para garantizar el crecimiento de las sustancias.

Tabla 1. Ejemplos de eluentes y diluyentes para toma de muestras de superficies ambientales

Soluciones	Concentración en Agua
Agua Peptonada	0,1% - 10%
Agua Peptonada buferada	0,067 M fosfatos, 0,43% NaCl, 0,1% peptona
Solución salina buferada	0,02 M fosfato, 0,9% NaCl
Cloruro de Sodio	0,25% - 0,9%
Solución Calgon	¼ fuerza
Solución de Tiosulfato	¼ fuerza
Agua	-
Caldo de Cultivo Soja y triptona (TSB)	-
Caldo de Cultivo Infusión cerebro- corazón suplementado con extracto de carne al 0,5%	-

Métodos de muestreo

Método del hisopo: Consiste en rotar y/o frotar con un escobillón estéril previamente humedecido en una solución diluyente, el área que se quiere muestrear. Este método es ampliamente utilizado para el muestreo y análisis de superficies regulares e irregulares y superficies no absorbentes.

Método de la esponja: Consiste en rotar y/o frotar con una esponja estéril previamente humedecida en una solución diluyente, el área que se quiere muestrear y analizar. Este método es ampliamente utilizado para el muestreo de superficies regulares e irregulares de gran tamaño.

Método del enjuague: Este método consiste en realizar un enjuague, lavado o inmersión de las superficies u objetos de análisis (si es posible) en una solución diluyente. Este método es ampliamente utilizado por efectividad en la recuperación de microorganismos y puede usarse para muestreo de objetos pequeños así como las superficies interiores de contenedores, por ejemplo: envases, botellas, bolsas de plástico, nebulizadores, tubos, etc.

Método Placa RODAC (Replicate Organism Direct Agar Contact): Este método consiste en unas placas de contacto que cuenta con una cuadrícula en el fondo de la caja para la cuantificación de colonias bacterianas. Las placas se encuentran llenas de medio de cultivo hasta obtener una superficie convexa que sobresale del borde de la misma. Este método es ampliamente utilizado en superficies planas.

3.1.5.1 Toma de muestras superficies no absorbentes y superficies irregulares

La selección del o los métodos de muestreo debe coincidir con las características de la superficie de los objetos o superficies que se desean analizar. Para las superficies no absorbentes se sugiere el uso de método de hisopo.



Materiales

- Hisopos estériles de algodón u otro material equivalente, de largo aproximado de 12 cm.

- Tubo de ensayo con tapa hermética conteniendo 10 mL de caldo de cultivo.
- BHI (Infusión cerebro-corazón).
- Plantilla de material de fácil limpieza y desinfección, con un área en el centro de 100 cm² (10cm x 10cm) o alternativamente, con un área en el centro de 25 cm² (5 x 5 cm).
- Guantes.
- Gorro.
- Mascarillas o tapabocas.



Procedimiento

- Colocar la plantilla sobre la superficie a muestrear.
- Humedecer el hisopo en el caldo de cultivo estéril y presionar ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
- Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, frotar 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior.
- Utilizar la plantilla con área de 100 cm² para realizar la toma en 4 lugares diferentes de la misma superficie.
- Colocar el hisopo en el tubo con caldo de cultivo estéril, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual debe ser eliminada.

3.1.5.2 Toma de muestras de superficies planas

La selección del o los métodos de muestreo debe coincidir con las características de la superficie de los objetos o superficies que se desean analizar.



Materiales

- Elementos de protección personal (gorro, mascarilla facial, bata limpia y guantes no estériles)
- Placas RODAC o Petrifilm (la cantidad que se defina con el comité de infecciones)

- Medio de cultivo con solución neutralizante (p.ej. caldo Dey-Engley, Lethen)
- Parafilm o Esparadrapo



Procedimiento

- Seleccionar la superficie a analizar en conjunto con el comité de infecciones (estantes, paredes, barandas). Realizar el procedimiento antes de la limpieza diaria de la superficie en estudio.
- Colocar elementos de protección personal (gorro, mascarilla facial, bata limpia y guantes no estériles)
- Teniendo cuidado de no romper el agar, colocar la superficie convexa de éste contra la superficie en estudio haciendo presión por el lado opuesto por unos segundos.
- En caso de requerirse muestras de prendas fabricadas con tela (sábanas, pijamas, toallas), solicitar la colaboración de una persona para estirar la prenda hasta obtener una superficie recta sobre la cual repetir el procedimiento descrito previamente.
- Una vez tomada la muestra, cerrar la placa y sellar con parafilm o esparadrapo teniendo cuidado de no generar contaminación de la placa
- Desinfectar la superficie sobre la cual se tomó la muestra porque sobre ella pueden quedar restos de agar.
- Repetir el procedimiento el número de veces que se haya definido por habitación o sitio de muestra. Se recomienda tomar 10 a 15 placas por habitación estudiada teniendo en cuenta que los sitios de muestreo seleccionados sean los que mayor contacto.

Consideraciones especiales

- Se debe tener un soporte epidemiológico o un plan de interpretación de resultados.

Consideraciones para el transporte y conservación de la muestra

- Rotular las muestras inmediatamente después de su toma.
- Registrar la muestra con el sitio de toma de la muestra, las condiciones. (preferiblemente colocar números y no nombre propio).
- El procesamiento de las muestras se debe realizar dentro de las primeras 4 horas después de la toma de la muestra.
- Si es posible, mantener un histórico de los resultados previos de cada uno de los sitios muestreados.

3.1.6 Toma de muestra de soluciones Líquidas

Para la toma de muestra de soluciones, la institución debe seleccionar el laboratorio microbiológico industrial con acreditación en la metodología que realizará el procesamiento de estas muestras.

Se debe establecer en conjunto con el laboratorio la responsabilidad para el envío de las muestras.

El comité de infecciones debe definir cuáles serán las soluciones a muestrear y registrar debidamente los datos de los productos en estudio, número de lote, registro de Invima, el nombre del productor, fecha de vencimiento, la presentación, el volumen enviado y las observaciones (si va abierto , si va sellado). Colocar la tapa del recipiente donde se encuentra la solución en estudio. Verificar que no existan fugas de la solución.

NOTA: Solicitar en los resultados del laboratorio industrial, la identificación de los microorganismos no específicos que se aíslan en recuentos de hongos levaduras totales, mesofilos totales, etc.

Si se trata de soluciones estériles los microorganismos recuperados deben ser identificados a nivel de género, especie y perfil de susceptibilidad antimicrobiana.

3.1.7. Toma de muestras del personal de la salud

La selección del o los métodos de muestreo debe coincidir con las características de la superficie corporal. Para superficies diferentes a las manos el procedimiento se debe realizar siguiendo las indicaciones o recomendaciones que se encuentran en cada capítulo correspondiente de este manual. Para toma de muestra de manos del personal asistencial se recomienda el uso del método de hisopo.



Materiales

- Elementos de protección personal (gorro, mascarilla facial, bata limpia y guantes no estériles)
- Hisopo estéril.

- Medio de cultivo (caldo de cultivo estéril)



Procedimiento

- Para la recolección de muestras de las manos del personal asistencial de áreas de la salud se deberá sumergir el hisopo en el caldo de cultivo estéril deslizarlo por la palma de la mano, luego por el dorso de esa misma mano, seguidamente las zonas interdigitales cubriendo todos los dedos y por ultimo las uñas cubriéndolas todas.
- Colocar el hisopo en el caldo y transportar al laboratorio.

Consideraciones especiales

- Se debe tener un soporte epidemiológico o un plan de interpretación de resultados.

Consideraciones para el transporte y conservación de la muestra

- Rotular las muestras inmediatamente después de su toma.
- Registrar la muestra con el sitio de toma de la muestra, las condiciones. (preferiblemente colocar números y no nombre propio).
- El procesamiento de las muestras se debe realizar dentro de las primeras 4 horas después de la toma de la muestra.
- Si es posible, mantener un histórico de los resultados previos de cada uno de los sitios muestreados.

Bibliografía

Shulster LM, C. R. (2004). Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations from CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Chicago, IL: American Society for Healthcare Engineering/American Hospital Association.

Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica SEIMC. (2012).

Clinical Laboratory Technical Procedure Manuals; (Vol. 22 No. 5, Vol. 16 No. 15) Approved Guideline—Fourth Edition (2002)

