

## Obtención y Manejo de Muestras para el Laboratorio

A continuación presentamos una serie de esquemas y pautas sobre el tipo de muestras recomendadas para la confirmación por parte del laboratorio de algunos de las enfermedades objeto de Vigilancia Epidemiológica incluidos en este manual. Este capítulo del documento de normas no es exhaustivo, pero contiene los procedimientos que ya están normatizados. El resto se ira complementando a través de documentos técnicos a medida que se avanza en este proceso.

### **Muestras útiles para la ejecución de pruebas de laboratorio de identificación de determinados agentes causales**

#### **Agente patológico o enfermedad probable Muestra Prueba**

Arbovirus Sangre o encéfalo ( - 70° C) Aislamiento viral

Sangre o suero (+4° C) Serología

Cólera Frotis rectales o muestras de heces Cultivo en un medio de transporte según las instrucciones del laboratorio

Dengue Sangre (suero) (< de 5 días de Aislamiento viral inicio de síntomas)

Sangre (suero) (> de 5 días de Serología inicio de síntomas)

Enfermedad Meningocócica LCR Cultivo, Tinción de Gram, Coagulación en látex.

Sangre Cultivo

Raspado de Petequias Tinción con azul de metileno.

Gastroenteritis Heces Cultivo (bacteriano y vírico), microscopia electrónica, ELISA.

Suero (+ 4° C) Serología

Hepatitis Suero (+ 4° C) ELISA

Malaria Sangre (extensiones gruesas y finas) Coloración

Peste Líquido de los Bubones Cultivo AF

Sangre ( en caldo o en agar sangre)

Rabia Encéfalo (- 70° C) AF y Aislamiento

Rubéola\Sarampión Orina Aislamiento viral

Sangre (suero) Serología

Varicela y Líquido de las lesiones, costras Microscopia electrónica, cultivo celular

Salmonella typhi Sangre( al comienzo de la enfermedad) Cultivo en caldo enriquecido

Shiguella Muestras fecales o frotis rectales en caldo enriquecido

Tifus Sangre Inoculación

### **Equipos y útiles necesarios para la toma de muestras**

<b>Tipo de equipo</b>	<b>Descripción</b>
Envases para muestras esterilizadas	Bolsas de plástico descartables, frascos de boca ancha (0.3 a 1.5 litros de capacidad) con tapas a roscas, botellas para muestras de agua (las botellas para agua clorada deben contener suficiente tiosulfato de sodio para asegurar una concentración de 100 mg de ese compuesto por cada litro de muestra), papel de estaño, recipientes de metal.
Implementos esterilizados y envueltos para recolección de muestras	Cucharas, cucharones, bajalenguas, cuchillo de carnicero, pinzas, espátulas, taladros, tubos metálicos(1.25 a 2.5 cm de diámetro: 30 a 60 cm de largo), pipetas, tijeras, hisopos, hisopos de Moore (almohadilla compactada de gasas hechas con trozos de 120 por 15 cm, atadas en el centro con un hilo o alambre largo y fuerte para muestras tomadas de alcantarillas, drenajes, arroyos, tuberías, etc).
Equipos para la recolección de muestras	
Dispositivos de Registro de Temperatura	Envases de cartón (con tapa) para transporte de muestras, frascos que contengan preservativos y una solución para transporte, recipientes protectores para las muestras (neveras), hisopos esterilizados, equipo para hisopados rectales. almohadilla de gasa
Equipo de Aovo	

	<p>esterilizadas de 10 x 10 cm, tubos de medios de transporte.</p> <p>Termómetro tipo bayoneta(para carne) con límites que incluyan de -17.8 a 104° C) por lo menos de 13 cm de largo (preferiblemente 20 cm) en envase protector, Termómetro con bulbo (límite de 117.8 a 104° C) en envase protector.</p> <p>Marcador de punta fina, rollo de cinta adhesiva etiquetas, tarjetas aprueba de agua con perforación y alambre, linterna, taladro eléctrico, fósforo, agua peptonada o destilada bufferada (5 ml en tubos de tapa a rosca), gradilla, envase aislado, medidor de PH, hidrómetro, protocolos de investigación.</p>
Agentes esterilizadores	Alcohol etílico(95%), antorcha de propeno.
Refrigerantes	Hielo envasado, refrigerante en bolsas de plástico, líquido en latas, bolsas o jarras de plástico o goma que puede llenarse de agua y congelarse, bolsas o jarras de plástico muy resistentes para hielo.
Ropas	Guardapolvos blancos para laboratorio (batas), sombreros de papel, guantes de plástico descartables, botas de plástico descartables (opcionales).

Cada establecimiento deberá contar con una unidad (nevera para cargar o bulto) conteniendo por lo menos 15 bolsas de plástico o frascos de boca ancha esterilizadas, 15 cucharas esterilizadas, 8 envases para recolección de muestras (sangre, heces, alimentos, etc). Este equipo deberá estar siempre en condiciones para usarse en casos de emergencia.

### **Indicaciones para toma de muestra de orina para aislamiento de virus de sarampión**

- 1.- La Muestra debe ser tomada durante la fase aguda de la infección, cuando el virus está presente en concentración alta
- 2.- La orina debe recogerse en un envase estéril, preferiblemente en un tubo de centrifuga ( 50 - 100 ml de orina)

3.- Tomar preferiblemente la primera orina de la mañana, de la parte media de la producción de orina.

4.- En caso que el laboratorio no pueda procesar la muestra, centrifugar esta por 30 minutos, descartar el sobrenadante, suspender el sedimento en 1 - 2 ml de Medio de Transporte Vírico-VTM.

5.- Mantener la muestra refrigerada y transportarla al laboratorio en un lapso de 48 horas ( si requiere un lapso de tiempo mayor la muestra puede ser congelada para su envío.

### **Obtención y manejo de muestras para identificación de neisseria meningitidis**

#### **1.- Muestras de Líquido Cefalorraquídeo (LCR) para Tinción de Gram, cultivo y/o prueba de Látex.**

- Realizar punción lumbar.

- Extraer 0.5cc a 1.0cc de LCR.

- Después de realizada la punción lumbar, el LCR debe ser llevado o enviado al laboratorio lo más pronto posible, ya que las N. meningitidis son muy lábiles a los cambios de temperatura.

- la muestra de liquido cefalorraquídeo debe echarse en un tubo estéril con tapa de rosca (NUNCA CON TAPA DE ALGODÓN), debidamente protegido para evitar rupturas, como es el colocarlo en un envase de metal (lata pequeña no oxidada), envuelto en algodón o gasa.

- Enviar al laboratorio donde sera realizada la prueba.

**NUNCA ENVIAR EN HIELO O FRÍO, NI COLOCAR LA MUESTRA EN LA NEVERA.**

#### **2.- Muestras de Sangre para hemocultivo**

- Disponer un tubo vacuntaner.

- Disponer de frascos de hemocultivo (BHI: caldo de cerebro-corazón vaca).

- Se debe desinfectar bien el área de punción: pasar una torunda de alcohol y luego una torunda con yodo al área de punción.

- Se debe desinfectar el tapón del frasco y cambiar la aguja de la jeringuilla antes de echar la muestra en el frasco de hemocultivo, agitar bien.

- Generalmente son necesarios de 2 a 5cc. de sangre.

- Para el transporte, la muestra debe ir envuelta en gaza o algodón dentro de un tubo de metal para evitar rupturas.

**Sino se disponen de frascos de hemocultivo, tomar muestra de sangre para obtener suero.**

**LA MUESTRA NUNCA DEBEN GUARDARSE EN LA NEVERA NI TRANSPORTARSE EN HIELO.**

**3.- Muestras de sangre para realizar prueba de Aglutinación por Látex en suero** (solo se realiza en casos excepcionales de muestras de sangre transportadas en condiciones no aptas para cultivo).

- Disponer un tubo estéril con tapa sin anticoagulante.

- Se debe desinfectar bien el área de punción: pasar una torunda de alcohol y luego una torunda con yodo al área de la punción.

- Generalmente son necesarios de 3 a 5cc. de sangre.

- Echar muestra de sangre en el tubo sin anticoagulante, se deja retraer el coágulo y se centrifuga. Se toma el suero (decantar).

- Para el transporte del suero, la muestra debe ir envuelta en gaza o algodón dentro de un tubo de metal para evitar rupturas.

**Se envía a temperatura ambiente. El tubo debe tener tapa de rosca o de corcho, nunca de algodón.**

**4.- Gota Gruesa para examen directo con coloración de azul de metileno.**

Otra muestra de sangre útil para el diagnóstico de meningococemia es la gota gruesa, la cual puede tomarse incluso en un post-mortem inmediato.

- Se necesitan dos portaobjetos nuevos y limpios y una lanceta.

- Desinfectar bien la yema del dedo (mano o pie), con alcohol.

- Puncionar el dedo con una lanceta o aguja estéril.

- Obtener gota de sangre.

- Colocar en el centro del portaobjeto.
- Con la punta del otro portaobjeto, hacer movimiento de rotación para defibrinar la gota de sangre.
- Dejar secar.
- Llevar al laboratorio para su coloración con azul de metileno.
- Identificar al microscopio diplococos intracelulares.

**5- Raspado de petequias para examen directo con coloración de azul de metileno y/o Tinción de Gram y/o cultivo.**

- Desinfectar el área de la piel con la lesión petequial.
- Inyectar 0.5 ml. De solución salina en los bordes de la lesión petequial y aspirar el liquido con la misma jeringuilla.
- Llevar inmediatamente al laboratorio la jeringuilla para fines de análisis según recursos.

**Todas las muestras deben enviarse al laboratorio con los datos generales del paciente: Nombre y apellidos, edad, sexo, fecha y hora de toma de la muestra; dirección del paciente; fecha de inicio de la sintomatología; fecha de inicio del tratamiento con antibióticos; nombre del médico que envía la muestra y numero de teléfono.**

**Obtención y manejo de muestras para identificación serológica y aislamiento viral del virus del Dengue**

**Estadío de la Enfermedad Días de inicio de síntomas muestra tomada para**

Aguda 1<sup>er</sup> al 3<sup>er</sup> día Aislamiento

Intermedio 4<sup>to</sup> al 5<sup>to</sup> día Aislamiento

Convalesciente 6<sup>to</sup> ó mas días Serología

**Las pruebas para la confirmación diagnostica de los casos:**

- Aislamiento viral
- Identificación de anticuerpos IgM, IgG (serología)

## **Toma de Muestras (procedimiento)**

**Aislamiento viral** ( desde el primer día de inicio de los síntomas hasta el quinto día):

- Tomar 5cc de sangre, depositar en un tubo estéril (no esterilizado) sin anticoagulante, conservar en refrigerador o nevera con hielo hasta su entrega al laboratorio de referencia , envían dentro de una neverita portátil con suficiente hielo dentro de las primeras 24 horas de haber tomado la muestra(no pegar el tubo del hielo para no congelar la muestra) Puede permanecer en este estado hasta 24 horas.

- Numerar el tubo con marcador y llenar la ficha clínico-epidemiológica, colocándole el mismo número del tubo.

**Identificación de IgM** (Después del quinto día del inicio de los síntomas hasta 30 días):

- Tomar 5 cc de sangre dejar en reposo hasta que se produzca retracción del coágulo.

- Separar el suero mediante centrifugación.

- Depositar el suero en otro tubo con tapa, para enviar al laboratorio de referencia en una neverita portátil con hielo suficiente dentro de las primeras 72 horas de haber tomado la muestra (no pegar el tubo del hielo para no congelar la muestra).

- Numerar el tubo con marcador y llenar la ficha clínico-epidemiológica, colocándole a este el mismo número del tubo.

**NUNCA ENVIAR LAS FICHAS JUNTO AL HIELO NI ENVUELTA EN LOS TUBOS**

**NUNCA CONGELAR LAS MUESTRAS**

### **Laboratorios disponibles**

Laboratorio Nacional Dr. Defilló Serología

Laboratorio Veterinario Central (LAVECEN) Aislamiento Viral.

**Obtención y envío de muestras para diagnóstico de Rabia**

## **1.- Muestra a tomar según el tamaño del animal a ser investigado**

- Especie pequeña silvestre: enviar el animal entero ya que esto permite su identificación.
- Animales domésticos: Enviar la cabeza del animal.
- Grandes especies: Enviar una parte del encéfalo en frasco con tapa.

## **2.-Técnicas para la toma de la muestra**

- La persona que tomará la muestra deberá protegerse las manos con guanes de goma gruesa así como también bata y mascarilla para evitar contacto con la muestra.
- Para separar la cabeza del cuerpo de los animales, deberá colocar el animal en una mesa, luego introducir el mismo en un saco o funda gruesa y luego procederá a separar la cabeza del cuerpo del animal.
- Luego de separar la cabeza procederá a incinerar y enterrar el animal.

## **3.- Técnicas para el envío de la muestra al Centro Antirrábico**

- Luego de obtener la cabeza del animal, procederá a mantenerlo dentro de una funda plástica doble y lo colocará en un termo con suficiente hielo para mantenerla a baja temperatura hasta que sea depositada en el Centro Antirrábico y de esta manera evitar la descomposición de la misma.
- Deberá sellar el termo y colocar correctamente y a la vista el nombre del remitente y el destinatario (Centro Antirrábico), además inscribir la siguiente leyenda:

Peligro Rabia

Material infeccioso de fácil descomposición

Entréguese de inmediato al destinatario

**DEBE TENERSE EN CUENTA QUE LA ADECUADA CONSERVACIÓN DEL MATERIAL O MUESTRA ES UN REQUISITO ESENCIAL PARA PODER HACER UN ADECUADO DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DE LA ENFERMEDAD. POR LO QUE MANTENER LA MUESTRA CON SUFICIENTE HIELO Y ADECUADAMENTE SELLADA ES DE VITAL IMPORTANCIA HASTA LLEGAR AL CENTRO ANTIRRÁBICO PARA SER PROCESADA.**



## Instrucciones generales para recolección de muestras fecales

### tipo de agente

	<b>virus</b>	<b>bacterias</b>	<b>parasitos</b>
Quando colectar	Dentro de las 48-72 horas siguientes al inicio de la enfermedad	Durante el período de diarrea activa (al inicio de la enfermedad)	En cualquier momento luego del brote de la enfermedad (preferiblemente al inicio)
Cuanto recolectar	La mayor cantidad posible de muestra de heces (10 cc)	Dos hisopados rectales o hisopos de heces frescas de cada una de las personas.	Una muestra de heces frescas de cada una de las personas.
Método de recolección	Coloque muestras de heces frescas (preferiblemente líquidas) que no se hayan mezclado con orina, en envase limpio, seco y estéril.	Para preparar los hisopos rectales, primero moje cada uno de los dos hisopos en medio de Cary-Blair, luego inserte secuencialmente 1-1.5 pulgadas en el recto y haga rotar el hisopo lentamente. Coloque ambos hisopos en el mismo tubo que contiene el Cary- Blair. Rompa las porciones superiores de los palillos de los hisopos y tape.	Recoja una muestra de heces que no esté mezclada con orina en un recipiente limpio
Almacenamiento	Refrigere de inmediato a 4 <sup>o</sup> C. NO CONGELE si se	Refrigere inmediatamente a 4 <sup>o</sup> C si las pruebas van a	coloque una porción de cada muestra de heces en una solución preservativa de

	prevé el uso de un microscopio electrónico.	hacerse dentro de las 48 hs siguientes a la recolección, de lo contrario congele las muestras a -70° C	formalina y alcohol polivinílico a una parte de heces por tres del preservativo.  Guarde a temperatura ambiente o refrigere a 4° C  NO CONGELE.
Transporte	Mantenga las muestras refrigeradas, utilizando material aislante, coloque las muestras en bolsas selladas sobre hielo o paquetes refrigerantes. NO CONGELE.	Refrigere igual que para especímenes virales. En el caso de muestras congeladas, coloque las muestras selladas sobre hielo seco y empaque en caja de material aislante.	Refrigere igual que para especímenes virales. Para las muestras a temperatura ambiente despache en recipiente a prueba de agua.

Identifique correctamente cada envase que contenga muestra con un marcador a prueba de agua.

### Recolección, conservación, empaque y envío de muestras de alimentos

Muestras	Métodos de conservación y recolección	Métodos de empaque y envío
Alimentos sólidos o mezclas de alimentos	Cortar porciones del alimento con cuchillo esterilizado. Recoger asépticamente por lo menos 200g de muestra con instrumento esterilizado y transferir a una bolsa de plástico esterilizada o frasco de vidrio de boca ancha.	Rotular. Colocar refrigerante alrededor del envase con la muestra. NO CONGELAR, NI USAR HIELO SECO. Llevar al laboratorio lo antes posible.
Alimentos líquidos o bebidas	Tomar muestras de lugares diferentes. Refrigerar.  Agitar o batir. Luego tomar la muestra de una de las	Como el anterior  Llevar al laboratorio lo más pronto posible, generalmente no en

	<p>siguientes formas:</p> <p>1-Echar con instrumento esterilizado por lo menos 200 ml en un envase esterilizado (bolsa plástica o envase de vidrio). Refrigerar la muestra.</p> <p>2-Sumergir un hisopo de Moore en el recipiente con el alimento liquido o insertarlo para que el liquido circule a través del hisopo, durante varias horas si es posible. Luego transferir el hisopo a un frasco que contenga caldo de cultivo.</p> <p>3-Si el liquido no es viscoso, pasar 1 o 2 litros por un filtro de membrana. Luego llevar la membrana del filtro a un frasco con caldo de cultivo.</p>	<p>necesario refrigerar.</p> <p>Igual anterior</p>
<p>Alimentos congelados</p> <p>Carnes o aves crudas</p> <p>Alimentos deshidratados</p>	<p>Llevar pequeños volúmenes congelados al laboratorio, sin descongelar, ni abrir. Si la pieza es muy grande perforar con taladro esterilizado y cortar por lo menos 200g, ponerlo en envase estéril, mantener congelado, usar hielo seco si es necesario.</p> <p>Hacer muestreo en una de las siguientes formas:</p> <p>1-Con un instrumento estéril o guante plástico, colocar piezas del ave o un gran trozo de carne en una bolsa grande de plástico estéril. Añadir 100 a 300 ml de caldo de cultivo, remover y cerrar la bolsa.</p> <p>2-Con guante plástico estéril.</p>	<p>Mantener congelado, usar hielo seco si es necesario durante el transporte.</p> <p>Rotular los envases. Colocar refrigerante alrededor del envase con la muestra. NO CONGELAR, NI USAR HIELO SECO. Enviar al laboratorio lo más rápido posible.</p> <p>Conserve en envase herméticamente cerrado y resistente a la humedad. Llevar al laboratorio.</p>

	<p>pasar una esponja o gasa estéril sobre un área grande del ave o corte de carne. Poner la esponja en frasco con caldo de cultivo.</p> <p>3-Humedecer un hisopo con agua destilada bufferada, o con agua peptonada al 0.1% pasarlo por las partes del ave o corte de carne luego colocar el hisopo en frasco con caldo de cultivo.</p> <p>Tomar por lo menos 200g del material con una cuchara, espátula, bajalengua o un instrumento similar, siempre estéril y transferirlo a un envase estéril.</p>	
Material de raspado, filtros de aire, barreduras, polvo, deshechos, etc.	Cortar y recoger por lo menos 200g del material con bajalengua, espátula, cuchara o pinza estéril y colocar en bolsas de plástico o frasco de boca ancha, todo esterilizado.	igual anterior Rotular, empacar y enviar como hisopado fecal. Cerrar con cinta aisladora, rotular y llevar al laboratorio. Refrigerar las muestras líquidas.
Hisopados ambientales o de la superficie de los equipos.	Humedecer el hisopo con agua peptonada esterilizada al 0.1% o con agua destilada bufferada y pasar por las superficies de contacto de los equipos o de las superficies ambientales. Colocar el hisopo en caldo de cultivo.	Cerrar con cinta aisladora, rotular. Empacar con material absorbente y llevar al laboratorio. Si no resulta posible analizar las muestras de forma inmediata, tras su recogida estas deben conservarse a una temperatura inferior a 10° C y procesarse preferiblemente antes de las 6 horas, de lo contrario se recomienda que la muestra se tome con hisopos de Moore o con el sistema de
Aire	Tocar la placa o el líquido con un dispositivo para muestreo de aire, o dejar que se asiente en el caldo o en las placas.	
Agua	La muestra debe ser representativa de toda el agua que se desea controlar. La muestra se toma en frasco	

<p>estéril con capacidad algo mayor de 100 ml o bolsas plásticas estériles desechables (Whirl-Pak). Si la muestra a analizar tiene cloro residual, debe añadirse tiosulfato sódico 0.1 ml</p> <p>(al 10 por 100 a una muestra de 120 ml) para neutralizarlo.</p> <p>Tomar agua de la llave después de dejarla correr durante 10 segundos. Tomar agua de fuente u origen después de dejarla correr durante 5 minutos. Dejar el frasco estéril bajo el chorro de agua y llenar hasta 2.5 cm de la tapa. Tomar de 1 a 5 litros. Pueden utilizarse alternativamente filtros de membrana. Los hisopos de Moore pueden utilizarse para tomar muestras de agua en arroyos o cañerías, mantenerlos en posición hasta 48 horas y luego transferirlo a frascos con caldos de cultivos.</p>	<p>filtros de membranas.</p>
--	------------------------------

### Instrucciones para la toma de muestras de especímenes clínicos de manipuladores de alimentos para exámenes bacteriológicos

Tipo de espécimen	Técnica de recolección	Conservación y transporte	Para investigar
Sub-ungueal	1-Humedecer un hisopo con salina estéril o caldo de Muller Hinton recoger el material e introducirlo inmediatamente en el medio de transporte.	Llevar inmediatamente al laboratorio en temperatura ambiente. Si no es posible, dejar así hasta 24 horas máximo, después de ese tiempo colocar en hielo.	E. Coli fecal Salmonella Shigela Estafilococo

<p>Lesiones de la piel, furúnculos, abscesos, secreciones en general (principalmente de brazos, manos, dedos, cuello y cara).</p>	<p>1-Limpiar la piel con solución fisiológica o con desinfectante débil, para evitar la contaminación con gérmenes saprófitas.</p> <p>2- Presionar la lesión con ayuda de gasas estériles y coger la muestra con hisopo estéril procurando la mayor cantidad posible de secreción.</p> <p>3-Si la lesión es cerrada, desinfectar la piel y puncionar con jeringa estéril.</p>	<p>Colocar el hisopo o el material recogido con la jeringa en un tubo estéril o en un medio de transporte.</p> <p>En casos de que no sea posible enviar inmediatamente al laboratorio dentro de 24 horas, colocar en deposito con hielo hasta la entrega al laboratorio.</p>	<p>Estafilococos</p>
<p>Orofaringe y mucosas nasales</p>	<p>1-Recoger con hisopo estéril e introducir inmediatamente en el medio de transporte.</p>	<p>Enviar inmediatamente al laboratorio, si no es posible el envío dentro de 24 horas, colocar en deposito con hielo hasta la entrega.</p>	<p>Estafilococos</p>